
SEAL OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY
SEMPER VIRENS
1885



Über das

Rauschbrandgift

und

ein antitoxisches Serum

mit einem Anhang

„Die Rauschbrand-Schutzimpfung".

Eine experimentelle Studie

von

Dr. R. Grassberger und **Dr. A. Schattenfroh**

Privatdozent für Hygiene — a. ö. Professor für Hygiene

an der k. k. Universität in Wien.



LEIPZIG UND WIEN.

FRANZ DEUTICKE.

1904.

M.

Verlags-Nr. 969.

K. u. k. Hofbuchdruckerei Carl Fromme in Wien.

Herrn

Professor MAX GRUBER

von den Verfassern

in Dankbarkeit und Verehrung

zugeeignet.

Vorwort.

In der modernen Bekämpfung der Tierseuchen kommt der spezifischen Schutzimpfung eine immer größere Bedeutung zu. Milzbrand, Schweinerotlauf, Rauschbrand, neuerdings auch Tuberkulose kommen hier in erster Reihe in Betracht, und bieten auch Beispiele für günstige Erfolge solcher konsequent durchgeführter Verfahren.

Die vorliegenden Untersuchungen, die sich zunächst mit der Erforschung der Eigenschaften der Rauschbrandgiftlösungen und eines antitoxischen Serums beschäftigten, eröffneten den Weg zu einem neuen Schutzimpfungsverfahren gegen den Rauschbrand der Rinder.

Dank dem Entgegenkommen der österreichischen Regierung und einer reichlichen materiellen Unterstützung aus Staatsmitteln, gelang es uns, in den letzten 3 Jahren in ausreichendem Maße die wissenschaftlichen Grundlagen des Verfahrens nach verschiedenen Richtungen hin zu erforschen und zu festigen. Kleine Versuche in der Praxis, die von Erfolg begleitet waren, ließen sich daran anreihen.

Wir sind insbesondere dem früheren Referenten im k. k. Ministerium des Innern, Herrn Ministerialrat i. P. Bernhard Sperk, für die Förderung unserer ersten Versuche zu lebhaftem Danke verpflichtet. Ebenso sei an alle jene Funktionäre der Zentralregierung und der Landesregierungen von

Niederösterreich und Tirol, die unseren Untersuchungen ihre Unterstützung angedeihen ließen, unser Dank erstattet.

Die Verwendung großer Versuchstiere und die unzureichende Ausrüstung unseres Institutes, zum Teil auch veterinärpolizeiliche Erwägungen brachten es mit sich, daß ein großer Teil der Versuche in den Stallungen des k. und k. Militär-Tierarzneiinstitutes und der Tierärztlichen Hochschule in Wien ausgeführt werden mußte.

Wir erfreuten uns auch hier des größten Entgegenkommens, und danken hierfür insbesondere dem Rektor der Tierärztlichen Hochschule, Herrn Hofrat Professor Dr. Bayer, dem stellvertretenden Leiter der Hochschule, Herrn Professor Lechner, den Herren Professoren Dr. Schindelka und Dr. Csokor, Herrn Professor Gonhäuser und Herrn Dozenten Dr. Hartl. Herrn Obertierarzt Lorenz gebührt in besonderem Maße für die ärztliche Beaufsichtigung der Versuchstiere unser Dank.

Der Wunsch, die Versuchsergebnisse auch weiteren Kreisen zugänglich zu machen, hat uns veranlaßt, die Arbeit in Buchform zu veröffentlichen.

Wien, am 1. November 1903.

Die Verfasser.

Grassberger und Schattenfroh,

Über das Rauschbrandgift

und

ein antitoxisches Serum.

Wir haben bereits zu wiederholten Malen — zuletzt ausführlich im Archiv für Hygiene, Band 48 (Verlag R. Oldenbourg, München) — den Rauschbrandbazillus im Rahmen unserer Studien über die Buttersäuregärung berücksichtigt und dabei an vielen Stellen auf die unter bestimmten Kulturbedingungen eintretende Bildung von löslichen Giftstoffen hingewiesen, und es konnte auch fallweise der Zusammenhang zwischen dem Auftreten gewisser morphologischer Bilder und den Gärungserscheinungen mit der Giftbildung betont werden. Die Wichtigkeit des Gegenstandes rechtfertigt es, daß wir im folgenden dem „Rauschbrandgift" eine eingehende Beschreibung widmen und unsere Kenntnisse, nach mehr als dreijähriger Beschäftigung mit der Frage, übersichtlich darstellen, wenn auch die Untersuchungen noch keineswegs als völlig abgeschlossen betrachtet werden können. So wäre es sehr verlockend gewesen, gerade mit Rücksicht auf die jetzt im Mittelpunkte der Diskussion stehenden Theorien der Antitoxinbildung, die Studien weiter auszudehnen, zumal da es sich im vorliegenden Fall um Giftlösungen handelt, die, wie später gezeigt werden soll, durch den prompten Eintritt der Wirkung, durch die markanten Vergiftungserscheinungen und eine Reihe von anderen Eigenschaften, für die Forschung ein sehr geeignetes Objekt abgeben. Wir mußten es uns vorläufig aus verschiedenen Gründen versagen, in der angegebenen Richtung eingehende Versuche anzustellen, behalten uns aber die Klärung der theoretischen Seite der Giftimmunität und der damit in Zusammenhang stehenden Fragen, soweit sie mit Hilfe des Rauschbrandgiftes möglich ist, für die Zukunft vor.

Hält man in der Literatur des Rauschbrandbazillus Umschau, so findet man in einigen Publikationen Mit-

teilungen über Giftwirkung von Rauschbrandkulturen und über Gewinnung löslicher, von den Bakterien trennbarer Giftstoffe. Der Hinblick auf die äußerst schwachen Giftlösungen, deren sich die französischen Autoren zu ihren Versuchen bedienten, ebenso wie manche, zum Teil sich widersprechende Angaben über die Eigenschaften derselben, die mit unseren Erfahrungen unvereinbar sind, lassen aber den Wert der genannten Untersuchungen, in welchen mehr eine Ahnung als eine Kenntnis der Giftbildung zum Ausdruck kommt, nicht allzu hoch erscheinen. Ja, einige Angaben in der Arbeit von Leclainche und Vallée über die Hitzebeständigkeit des Rauschbrandtoxins (siehe später) machen es sogar zweifelhaft, ob die französischen Forscher in der Tat stets mit dem spezifischen Gift arbeiteten, oder ob nicht anderweitige, den Proteinen nahestehende Substanzen gelegentlich den Tod ihrer Versuchstiere herbeiführten.

Im folgenden sei ein Auszug aus den Arbeiten von Duenschmann und Leclainche-Vallée mitgeteilt.

Roux hatte den Rauschbrandbazillus in Kalbsbouillon gezüchtet, doch waren 20 cm^3 der durch Porzellan filtrierten Kulturen bei intraperitonealer Einverleibung für Meerschweinchen nicht mehr tödlich.

Duenschmann trachtet stärker wirksame Rauschbrandtoxine herzustellen, indem er von der Vorstellung ausgeht, daß die Kultur in eiweißreichen Nährlösungen sich hierzu besonders eignen müsse.

Er entfernte die Eingeweide von Meerschweinchen, die an Rauschbrand verendet waren, und hielt die Kadaver durch 36 bis 48 Stunden im Brutschrank. Dieser Vorgang soll infolge einer üppigen Vermehrung der Rauschbrandbazillen zu einer Anhäufung von Giften geführt haben, derart, daß nunmehr bereits 15 cm^3 des durch Chamberlandfilter sterilisierten Muskelsaftes Meerschweinchen bei intraperitonealer Einverleibung in 30 Stunden töteten. Duenschmann gibt hierbei an, niemals, wie dies Roux gelegentlich getan hatte, die Flüssigkeiten durch Erhitzen keimfrei gemacht zu haben, da die aktive Substanz durch Erhitzen geschädigt werde. Kulturen in Rinderserum, das mit der doppelten Menge destillierten Wassers verdünnt war, lieferten nur wenig wirksame Lösungen, hin-

gegen gelang es durch Züchten des Rauschbrandbacillus auf gehacktem Fleisch, das mit verdünnter Sodalösung übergossen und bei 120° im Drucktopf sterilisiert wurde, die Toxizität der Kulturen derart zu steigern, daß 4 bis 5 *cm*³ des durch Chamberlandkerzen filtrierten Fleischsaftes Meerschweinchen töteten. Züchtung auf frischem Fleisch war wegen der Unmöglichkeit, Reinkulturen zu erzielen, mißlungen. Die wirksamen Flüssigkeiten konnten über Schwefelsäure auf ein Drittel ihres Volumens eingeengt werden, ohne an ihrer Giftigkeit einzubüßen (tödliche Dosis 1·5 bis2 *cm*³). Sie dienten Duenschmann ausschließlich für seine weiteren Versuche.

Wurden tödliche Mengen der Giftlösung Meerschweinchen in die Bauchhöhle injiziert, so konnten ähnliche Erscheinungen beobachtet werden, wie sie bei der Rauschbrandinfektion auftreten. Die Tiere zeigen gestörte Freßlust, Traurigkeit. Das Haarkleid ist gesträubt, und unter krampfartigen Zuckungen, gesteigerter Reflexerregbarkeit und Temperaturabfall gehen die Tiere zugrunde. Die Sektion ergibt, außer Ansammlung geringer Mengen von Flüssigkeit in der Peritonealhöhle, keine makroskopisch erkennbaren Veränderungen der Organe. Bei subkutaner Applikation der gleichen Menge von Giftlösung, die, intraperitoneal beigebracht, den Tod eines Meerschweinchens herbeigeführt hatte, blieb ein Meerschweinchen am Leben und zeigte nur nekrotische Veränderungen der Haut an der Injektionsstelle. Duenschmann schreibt dies dem Umstande zu, daß infolge der rasch eintretenden Zirkulationsstörung die Resorption vom Unterhautzellgewebe aus gestört, beziehungsweise unterbrochen sei, wofür auch die Beobachtung sprach, daß ein Meerschweinchen, dem an vier Körperstellen im ganzen die einfache tödliche Dosis injiziert wurde, innerhalb eines Tages typisch zugrunde ging.

Die Versuche, das wirksame Prinzip zu isolieren, ergaben, daß nach Fällung der Giftlösung mit dem 10- bis 12fachen Volumen Alkohol sowohl der Niederschlag als auch die gelöst bleibenden Anteile für Meerschweinchen giftig waren, und daß nach halbtägiger Dialyse der Rückstand, eingeengt und neuerlich in Wasser gelöst, eine unverminderte Wirksamkeit bewahrt hatte.

Kaninchen, die mit verdünntem Rauschbrandblute von Meerschweinchen vorbehandelt waren, erwarben ein Serum,

das in Dosen von 2 bis 6 cm^3 Meerschweinchen vor der Rauschbrandinfektion schützte. Diesem Serum kamen in geringem Grade auch antitoxische Eigenschaften zu, indem beobachtet werden konnte, daß die einfache tödliche Giftmenge, mit 2 cm^3 Serum gemischt, wenngleich die Tiere sämtlich erkrankten (also jedenfalls unvollständige Neutralisation!), nicht mehr den Tod derselben herbeiführte. Auch die eine Stunde vorher vorgenommene Injektion von 2 cm^3 Serum schützte vor der tödlichen Dosis der subkutan einverleibten Giftlösung, während ein Meerschweinchen, das die doppelte tödliche Dosis, mit 1 cm^3 Serum gemischt, einverleibt erhielt, nach 8 Tagen kachektisch zugrunde ging.

Von den übrigen Ergebnissen der Duenschmannschen Untersuchungen wäre noch als wichtig hervorzuheben, daß wiederholte Injektionen nicht tödlicher Mengen der Giftlösung bei Meerschweinchen weder Schutz vor der Infektion, noch vor der tödlichen Giftmenge herbeiführten. Im Gegenteil mußte aus den Experimenten geschlossen werden, daß die mit Giftlösung vorbehandelten Tiere gegenüber einer späteren Gifteinverleibung überempfindlich werden.

Die Untersuchungen von Leclainche und Vallée, auf die später noch einmal zurückgekommen werden soll, förderten eine Reihe von interessanten Tatsachen über den Rauschbrand zutage, und es sind deren Resultate auch von deutschen Autoren, wie Kitt, akzeptiert worden. Wiewohl wir die Bedeutung einer Reihe von Experimenten nicht in Abrede stellen wollen, können wir doch speziell in den Versuchen über die Wirkung der Toxine einen Fortschritt gegenüber den Duenschmannschen Arbeiten nicht erblicken. Es scheint uns im Gegenteil wert, besonders hervorgehoben zu werden, daß die genannten Autoren manche der von Duenschmann gekannten Tatsachen kaum berücksichtigt, geschweige denn weiter verfolgt haben.

Leclainche und Vallée kultivierten den Rauschbrandbazillus in sogenannter Martinscher Bouillon, die von Martin für die Züchtung des Diphtheriebazillus empfohlen worden war. Sie erzielten Giftlösungen, die durch Chamberlandkerzen filtriert, einen großen Teil ihrer Wirksamkeit einbüßten und erst in einer Dosis von 5 cm^3 intraperitoneal injiziert, Meerschweinchen töteten. Während einfach dekantierte Kulturen

Kaninchen in einer Dosis von 2 cm^3 (intravenös injiziert) in wenigen Minuten bis 15 Stunden töteten, waren Filtrate bei dieser Art der Applikation völlig wirkungslos. Allerdings ist hier auf einen Widerspruch in den Angaben der Autoren aufmerksam zu machen, da sie an anderer Stelle davon sprechen, daß ihnen Kulturfiltrate zur Verfügung standen, die Kaninchen bei intravenöser Injektion in Dosen von 3 cm^3 töteten. Auch Pferde, mit dekantierten Kulturen intravenös injiziert, gingen gelegentlich in wenigen Minuten zugrunde.

Auffallend ist das Resultat eines Versuches, in welchem 3 Tropfen Filtrat ein Meerschweinchen bei intrazerebraler Einspritzung in 18 Stunden töteten; es wäre von großem Interesse gewesen, diese Erscheinung weiter zu verfolgen.

Die Toxizität der Kulturen in Bouillon Martin beginnt nach 48 Stunden, erreicht am fünften Tage ihren Höhepunkt und nimmt dann wieder allmählich ab. Insbesondere junge, noch nicht sporulierende Kulturen wurden durch die Filtration geschädigt, indem in diesem Stadium das Gift noch an den Leibern hafte, während in älteren Kulturen anläßlich der Auflösung der Bakterien bei der Versporung das Gift in Lösung gehen soll.

Das Gift soll sehr hitzebeständig sein. Leclainche und Vallée weisen auf die Angabe Rouxs hin, daß die Giftigkeit der Kulturen durch Erhitzen auf 115° Celsius nicht völlig verloren geht. Zweistündiges Erwärmen auf 70 bis 75° Celsius soll nur die chemotaktischen Eigenschaften des Giftes verändern, derart, daß es nunmehr leukocyten-anlockende Eigenschaften besitze. Die Autoren führen auch einen Versuch an, der dokumentiert, daß 8 cm^3 eines 10 Minuten auf 115° Celsius erhitzten Kulturfiltrates ein Meerschweinchen in 8 Tagen unter kachektischen Erscheinungen und anfänglichem Temperaturabfall (30° Celsius) töteten.

Bei Tieren, die mit Rauschbrandimmunserum (gewonnen durch wiederholte Behandlung von Kaninchen mit Rauschbrandblut) gegen die Rauschbrandinfektion geschützt sind, tritt Giftwirkung noch immer nach Injektion von Kulturen des Rauschbrandbazillus in Bouillon Martin hervor. Die Tiere gehen marantisch in 15 bis 30 Tagen zugrunde.

Wir wenden uns nun der Besprechung unserer eigenen Versuche zu, die sich auf die Feststellung der Wirkungsweise und

allgemeinen Eigenschaften der Giftlösung, auf die Herstellung und Erprobung eines antitoxischen (und antiinfektiösen) Serums, auf die Bestimmung der Beziehungen zwischen Gift und Gegengift und auf die Verwertbarkeit der hieraus gezogenen Schlüsse für ein Schutzimpfungsverfahren gegen den Weiderauschbrand erstreckten. Wir glauben, daß einer übersichtlichen Darstellung am besten gedient wird, wenn wir die umfangreiche Materie in folgende Abschnitte zergliedern.

Es sollen besprochen werden:

A. Die Eigenschaften der Giftlösung.

B. Die Eigenschaften des antitoxischen Serums und der Serum-Toxingemische.

C. Die Schutzwirkung von Gift- und Seruminjektionen gegenüber der Rauschbrandinfektion.

Und im Anhange hierzu:

Die Rauschbrand-Schutzimpfung.

A. Die Eigenschaften der Giftlösung.

a) Herstellung der Kulturen.

Das ausgesprochene Gärvermögen des Rauschbrandbazillus, das ihn nach unserer Auffassung als Buttersäurebazillus katexochen charakterisiert, ist von uns zu wiederholtenmalen betont und erst kürzlich im Archiv für Hygiene ausführlich geschildert worden. Hierbei hat sich insbesondere herausgestellt, daß eine anhaltende, üppige Vermehrung desselben in den Kulturen nur erzielt werden kann, wenn den Lösungen vergärbare Substanzen, Zucker oder milchsaurer Kalk, zugesetzt werden. Es ist diese Tatsache von den Autoren, welche sich bisher mit Untersuchungen über den Rauschbrandbazillus beschäftigt haben, keineswegs ihrer Bedeutung entsprechend gewürdigt worden, ja in manchen Abhandlungen fehlt jede Angabe, daß Gärversuche angestellt wurden. Kitasato stellt bekanntlich den fördernden Einfluß eines Zuckerzusatzes zum Nährboden überhaupt in Abrede, wie denn in den letzten Jahren mehrfach die an sich richtige Beobachtung, daß die Virulenz mancher Bakterien bei fortgesetzter Züchtung in zuckerhaltigen Nährböden schwindet, in ganz irrtümlicher Weise verallgemeinert wurde

und vielfach zu einer verhängnisvollen Scheu vor der Verwendung des Zuckers führte. Von der Vorstellung ausgehend, daß es bei der Gewinnung von Toxinen vor allem auf eine recht kräftige Eiweißkost ankomme, wurden, trotz zahlreicher bereits gewonnener Erfahrungen, diese wichtigen Hilfssubstanzen, die, freilich nur bei geeigneter Anwendung, geradezu die Einleitung des zur Giftbildung geeigneten Stoffwechsels befördern, beiseite gesetzt.

In der genannten Arbeit über den Rauschbrandbazillus wurde hervorgehoben, daß derselbe im Tierkörper in einem labilen Zustand ist, der sich (um die hier besonders interessierende chemisch-biologische Seite der Frage zu streifen), darin äußert, daß bei der Reinisolierung und Weiterzüchtung in einem Extrem der Stoffwechselcharakter auf die Seite exquisiter Buttersäuregärung mit Zurücktreten von fäulnisartiger Zersetzung, im anderen — seltenen — Extrem auf die Seite ausgesprochener Fäulniserregung ausschlägt.

Es sei hier darauf verwiesen, daß alle unsere Erfahrungen dafür sprechen, daß die Giftbildung des Rauschbrandbazillus am häufigsten einem Stoffwechsel parallel geht, der in der erstgenannten Richtung liegt, bei dem sich also der Rauschbrandbazillus als typischer Buttersäurebazillus erweist. Ja, wie sich des öfteren herausstellte, ist gerade in solchen Fällen, wo sich der Rauschbrandbazillus im morphologischen und chemischen Verhalten den fäulniserregenden, anaeroben Bakterien nähert, sehr häufig ein plötzlicher Verlust von Virulenz und Giftbildung zu beobachten. Für die Herbeiführung des zur Toxinbildung geeigneten Zustandes ist nun die Verwendung der genannten vergärbaren Substanzen anscheinend von größter Bedeutung, freilich nicht in dem Sinne, daß es genügt, eine beliebige Kultur oder, noch einfacher, ein Stückchen Rauschbrandmuskel in Zuckerbouillon einzubringen. Man glaube auch nicht, daß es bloß darauf ankommt, ein möglichst virulentes Reinmaterial im genannten Sinne zu verwenden.

In unserer mehrmals hervorgehobenen Arbeit im Archiv für Hygiene konnten wir zeigen, wie wechselnd und mannigfaltig die Erscheinungen sind, die in den Kulturen des Rauschbrandbazillus zutage treten. Dementsprechend wechselnd sind die

Bilder, die in den Gift-Gährkolben zur Beobachtung kommen, woraus schon die Schwierigkeit, bestimmte, allgemein giltige Rezepte für die Gewinnung stark wirksamer Giftlösungen anzugeben, hervorgeht.

Will man einen beliebigen Rauschbrandstamm zur Giftbildung heranziehen, so handelt es sich außer der Verwendung der entsprechenden Nährböden vor allem darum, bei der Isolierung und Weiterzüchtung Verhältnisse herbeizuführen, die partielle Anpassung an unsere Nährböden (üppiges Wachstum) mit Beibehaltung bestimmter biologischer Eigentümlichkeiten vereinigen.

Wir haben an anderer Stelle bereits ausgeführt, in welcher Weise wir die Ansprüche, die der Rauschbrandbazillus an unsere Nährböden und an unsere Technik stellt, zu befriedigen suchen. Als wichtig für die Frage der Giftbildung wäre speziell auf folgendes zu verweisen. Es konnte seinerzeit nachgewiesen werden, daß der Rauschbrandbazillus unter vielen Umständen die ausgesprochene Neigung aufweist, in einen Zustand überzugehen, der morphologisch durch Verlust der Beweglichkeit und durch Abnahme der Sporulierungsfähigkeit, und biologisch-chemisch durch die auffallende Tatsache charakterisiert ist, daß diese Rassen den Zucker nur bis zur Bildung von Milchsäure vergären. Diesen Zustand nannten wir denaturiert.

Es verdient nun bemerkt zu werden, daß nicht nur weitgehend denaturierte Kulturen niemals zu einer reichlicheren Ansammlung von Gift in der Lösung führen, sondern daß auch Rauschbrandkulturen, deren Eigenschaften im Gegensatze hierzu denjenigen der im Tierkörper wuchernden näher stehen, durchaus nicht in allen Fällen zur Giftproduktion sich eignen. So versagen Stämme mit sehr ausgesprochener Tendenz zur Sporenbildung oft völlig, so daß es, wenn die gewünschte Giftbildung eintreten soll, auf die Heranziehung eines geeigneten „Übergangsstadiums" ankommt, was in vielen Fällen sorgfältiges Studium erfordert. Wir haben auch mehrmals gesehen, daß bei den eben genannten Rassen mit sehr hochgradiger Neigung zur Versporung, bei den Versuchen einer Anpassung an unsere Nährböden, der Zustand brüsk in den völlig denaturierten übergehen kann. Damit ist nun auch in der Regel die Fähigkeit, Toxin zu liefern, dauernd verloren gegangen.

Der Ablauf der Vorgänge, wie sie sich in den zur Produktion von Giften bestimmten Gärkolben abspielen, läßt sich noch am besten an einigen Beispielen erörtern.

Zunächst sei eine besonders bemerkenswerte Form der Giftbildung besprochen, bei welcher im Verlaufe der Gärung zwei deutlich getrennte Phasen beobachtet wurden.

Der Nährboden, welcher Dextrose als Gärmaterial enthielt, zeigte in solchen Fällen, auf eine primär beginnende Gärperiode folgend, eine mehrere Wochen dauernde Nachgärung. Derartige Giftkolben wiesen nun erhebliche Mengen von Gift auf, indem bereits 0·01 cm^3 der bakterienfreien Lösung (bei subkutaner Injektion) für Meerschweinchen tödlich waren. Was die näheren Umstände betrifft, unter denen Toxin gebildet wurde, so ließen verschiedene Versuche, die unter ähnlichen Verhältnissen angestellt wurden, vermuten, daß die Giftbildung gerade mit dem Auftreten der Nachgärung parallel geht, während bei der stürmischen primären Gärung kein Toxin gebildet wird. Blieb bei Verwendung desselben Ausgangsmateriales und eines gleichartigen Nährbodens aus unbekannten Gründen die Nachgärung aus, so kam es auch fast niemals zur Giftbildung. Diese Beobachtung schien dafür zu sprechen, daß die (während der Nachgärung erfolgende) Zersetzung der Milchsäure, beziehungsweise des milchsauren Kalkes (Neutralisation der gebildeten Säuren durch die den Kolben von vorneherein zugesetzte Kreide) zur Toxinbildung in enger Beziehung stand. Tatsächlich konnte die Sicherheit des Erfolges erhöht und in fast allen Fällen die Ausbeute an Gift gesteigert werden, wenn wir in bestimmtem Verhältnis der zuckerhaltigen Bouillon milchsauren Kalk hinzufügten.

Ebenso gelang es, wenn das Ausgangsmaterial hierzu geeignet war, durch Aussaat junger Kulturen aus zuckerfreier Bouillon, der milchsaurer Kalk zugesetzt war, giftige Kulturfiltrate zu gewinnen. In diesem Falle entsteht das Gift bereits reichlich nach 3 bis 4 Tagen. Die Gärung selbst sistiert nach kurzer Zeit; es kommt zu keiner Nachgärung, wie diese nach dem früher geschilderten in Zuckerbouillonkolben eintritt, wobei, wie erwähnt, die Kulturfiltrate oft erst nach Wochen giftige Eigenschaften annahmen.

Wenn wir andere Sporenmaterialien zur Aussaat verwendeten, ereignete es sich häufig, daß in Zuckerbouillonkolben das Stadium einer scharf abgegrenzten Nachgärung ausblieb, obgleich die Gärung protrahiert verlief. In solchen Fällen war auch die Toxinproduktion nicht an eine bestimmte Zeit gebunden. Gewöhnlich setzte sie dann frühzeitig ein, so daß gelegentlich schon nach 12 Stunden Toxin im Filtrate der Kultur nachweisbar war, und erreichte meistens am 3. bis 6. Tage ihren Höhepunkt (0·001 bis 0·0005 cm^3 keimfreies Filtrat töteten Meerschweinchen in 24 bis 72 Stunden). Wir dürfen wohl in diesem Falle — hierfür spricht auch die gleich zu besprechende mikroskopische Untersuchung — eine Interferenz der biologischen Vorgänge annehmen, so daß gleichzeitig und nebeneinander Zucker (in Milchsäure etc.) und Milchsäure (in Buttersäure etc.) vergoren werden.

Die Gewinnung stark wirksamer Giftlösungen hängt auch noch von anderen, als den bisher gewürdigten Momenten ab. Die Reinheit der Kultur ist von ganz ausschlaggebender Bedeutung für die Sicherheit des Erfolges. Wachsen fremdartige Keime in den Rauschbrandkulturen an, so ist die Ausbeute an Gift häufig schlecht oder ganz fehlend, gleichgiltig, ob eine völlige Unterdrückung des Rauschbrandbazillus stattfindet, oder ob derselbe daneben weiterwächst. Es scheint die Annahme gerechtfertigt zu sein, daß das labile Gift von manchen Bakterien zersetzt, zerstört wird. Sie ist um so wahrscheinlicher, als auch in Reinkulturgärungen, wie wir wiederholt einwandsfrei nachweisen konnten, gelegentlich das bereits gebildete Gift wieder zerstört wird. Am häufigsten scheint dies bei besonders stürmischem Verlaufe derselben der Fall zu sein. Von diesem Gesichtspunkte aus ist daher auch die Wahl des Zeitpunktes für die Unterbrechung der Gärung von Wichtigkeit. Bei einiger Übung und genauer Kenntnis der Eigentümlichkeiten des verwendeten Sporenmateriales bereitet dieses Moment keine erheblichen Schwierigkeiten.

Weiters wäre hervorzuheben, daß die Kultivierung des Rauschbrandbazillus stets bei 36 bis 38° C. erfolgte, da bei niedrigeren Temperaturen (wegen des damit verbundenen Fehlens der Milchsäurevergärung?) Gifte nicht gebildet wurden.

Die mikroskopische Untersuchung der Giftkolben ergab, wie bei den verschiedenen Kultur- und Wachstumsbedingungen nicht anders erwartet werden konnte, kein übereinstimmendes Bild. Es ist wohl überflüssig, die Einzelheiten an dieser Stelle des näheren mitzuteilen, da der Befund sich völlig mit jenem deckt, der in unserer oben zitierten Abhandlung bei der Beschreibung des morphologischen Verhaltens des Rauschbrandbazillus geschildert wurde.

Es sei an dieser Stelle nur nochmals darauf hingewiesen, daß im Stadium der Nachgärung, gleichzeitig mit dem Auftreten von freiem Gift, eine neue Generation zur Entwicklung gelangt, die sich durch meist ziemlich intensiv färbbare Einzelindividuen, Ketten oder Fäden (mit oder ohne Granulose) charakterisiert. Diese neuen Generationen, denen offenbar die Giftproduktion zugeschrieben werden muß, entwickelten — und dies sei besonders betont — nur in seltenen Fällen und dann nur in beschränkter Anzahl Sporen, ebenso fehlten häufig Sporen in den oben beschriebenen Zuckerbouillongärkolben, die von Anfang an Toxin enthalten, wie in den Kalziumlaktatbouillonkulturen.

Hiermit erledigt sich von selbst die bereits erwähnte Anschauung von Leclainche und Vallée, daß das Auftreten von Gift in der Lösung an die Sporenbildung gebunden sei. Zeitlich mögen beide Vorgänge gelegentlich zusammenfallen, ursächlich besteht aber nach unseren Erfahrungen gewiß kein direkter Zusammenhang zwischen denselben. Die französischen Forscher wurden zu ihrer Vorstellung dadurch geführt, daß der Unterschied in der Giftigkeit zwischen Kulturen und Kulturfiltraten hauptsächlich, solange dieselben nicht sporulierten, hervortrat, so daß sie das Auftreten von gelöstem Gift auf den bei der Sporenbildung erfolgenden Zerfall der Leibessubstanz bezogen. Wir konnten zwar gleichfalls die Erfahrung machen, daß die nicht filtrierten Kulturen gelegentlich stärker giftig waren als die Filtrate, namentlich wenn letztere schwach wirksam waren, doch scheint uns die Ansicht der französischen Autoren, daß für das Auftreten von gelöstem Gift die Leibessubstanz der Bakterien zerfallen müsse, auf Grund der Tatsache, daß häufig gleichzeitig mit der Giftbildung eine üppig sich vermehrende, neue, sporenlose Fadenvegetation

auftritt, unhaltbar. Anderseits konnte in solchen Fällen, wo (Gärung in 2 Phasen) im Verlaufe der primären Gärperiode überaus reichlich rasch zerfallende Clostridien zur Entwicklung kamen, zu dieser Zeit kein in Lösung befindliches Gift nachgewiesen werden.

Die Giftbildung muß demnach als Sekretionsvorgang der lebenden Bakterienzelle aufgefaßt werden, nicht als passive Auslaugung von Proteinen oder ähnlichen Stoffen aus dem zerfallenden Plasma der Leiber.

Die günstigen Erfolge hinsichtlich der Toxinproduktion, die sich bei Verwendung von vergärbaren Substanzen in den Kulturen erzielen ließen, machten weitere Versuche mit zuckerfreier Bouillon, Serum, frischem oder gekochtem Fleisch, eigentlich überflüssig. Wir wollten uns trotzdem auch hierüber durch einige Versuche Orientierung verschaffen, sahen aber bald, daß auf diesem Wege eine Steigerung der Giftproduktion nicht zu erzielen ist.

In keinem Falle waren auch nur halbwegs wirksame Giftlösungen zu gewinnen, auch nicht, wenn durch Übertragung kräftig wachsender Generationen und strengste Anaerobiose möglichst günstige Verhältnisse in den Kulturen geschaffen wurden.

Besonders kompliziert zusammengesetzte Nährböden verdienen daher in keiner Weise den Vorzug, ebenso wie bisher auch kein Anhaltspunkt für die bessere Eignung des nativen Eiweißes gegenüber dessen Abkömmlingen — soweit es sich um Toxinproduktion handelt — erbracht ist. Auch auf den Eiweißreichtum des Nährbodens, wie Dünschmann meint, kommt es nicht an, da wir feststellen konnten, daß bei Steigerung des Peptongehaltes der Zuckerbouillon auf das Doppelte oder Dreifache (2 und 3%) eher eine Abnahme als eine Zunahme der Giftproduktion eintritt.

Wir wollen hier nochmals auf das bereits oben berührte Verhältnis der Giftbildung zum Auftreten von Fäulniserscheinungen hinweisen. Wir konnten gelegentlich die Beobachtung machen, daß in einzelnen — sicher Reinkulturen enthaltenden — Gärkolben aus unbekannten Gründen eine intensivere Zersetzung des Eiweißes, mit Auftreten von Geruch nach Fäulnisprodukten, platzgriff. Sehr häufig war gleichzeitig die

Giftproduktion verringert oder aufgehoben. Die sich hierin äußernde Tendenz zum weitergehenden Abbau des Eiweißmoleküles ist der Bildung des Toxins abträglich.

Auch die Muskeln der rauschbrandigen Kadaver zeigen keine ausgesprochenen Fäulniserscheinungen.

b) Gewinnung der keimfreien Giftlösung.

Es ist selbstverständlich, daß sowohl das Studium der Giftwirkung, als auch die geplante Anwendung auf die praktischen Zwecke einer Schutzimpfung im großen (s. w. u.) die völlig sichere Trennung von Lösung und Bakterien, beziehungsweise deren Sporen, zur Voraussetzung hat.

Eine solche Trennung ist ausschließlich durch die keimdichte Filtration möglich, da es niemals gelingen kann, etwa durch Dekantieren oder Zentrifugieren der Kulturen den gleichen Effekt zu erzielen.

Bereits die französischen Forscher berichten, daß beim Filtrieren der Kulturen durch Chamberlandkerzen der größte Teil des Giftes im Filter zurückgehalten werde, da die Filtrate wesentlich weniger wirksam seien als die dekantierten Kulturen.

Berücksichtigt man, daß die Giftwirkung der dekantierten Kulturen, deren sich die Autoren bedienten, bereits an sich eine recht mäßige war, so wird man die Bedeutung dieser Tatsache würdigen. Wenn nun auch der Vergleich, den die genannten Forscher zwischen dekantierten und filtrierten Kulturen ziehen, anfechtbar ist, da ja die dekantierten Kulturen noch Sporen enthalten konnten, so ist doch an sich nicht daran zu zweifeln, daß ein solcher Unterschied in der Giftwirkung von Filtrat und dekantierter Flüssigkeit bestand. Es geht dies aus den Experimenten hervor, welche mit den für die Infektion selten, für das Rauschbrandgift in hohem Maße empfänglichen Kaninchen angestellt wurden.

Auch wir konnten nun feststellen, daß selbst bei hohem Giftgehalt der Kulturen die Filtration durch feste Filter (Chamberland-, Berkefeld-, Delphin-Filter) wegen des damit verbundenen Verlustes an wirksamer Substanz nicht anwendbar ist. Wir mußten daran denken, eine andere Methode

der Filtration anzuwenden. Es gelang uns, durch Verwendung von Klärpulvern ein jederzeit äußerst bequem und verläßlich herzustellendes Filter zu kombinieren. Durch eine Reihe von kleinen Verbesserungen brachten wir unser Verfahren so weit, daß es, wie wir in großen Versuchsreihen feststellen konnten, vollkommen keimfrei arbeitet. Wir versetzten die zur Filtration bestimmten Kulturen mit Sporen von Heubazillen, Milzbrandbazillen, mit B. prodigiosus etc., und nahmen sowohl von einzelnen Portionen am Beginn und Schluß der Filtration, als auch von dem Gesamtfiltrat Proben von mehreren Kubikzentimetern, die wir (zum Teil selbst in Bouillon) aussäten.[1]) Niemals waren die spezifischen Keime in den Filtraten nachweisbar, wenn wir uns genau an die Vorschrift hielten.

Die filtrierte Giftlösung stellt eine völlig klare, gelbe oder bräunliche (je nachdem Kalziumlaktatbouillon oder Zuckerbouillon verwendet wurde) Flüssigkeit dar, die steril ist und es auch bei zweckmäßiger Aufbewahrung bleibt.

Es sei hier erwähnt, daß wir selbstverständlich durch Kultur und Tierversuch die Abwesenheit von Rauschbrandsporen in den Giftlösungen feststellten. Bei der großen Empfindlichkeit dieser Bakterienart gegenüber Nährbodenwechsel, bei der Umständlichkeit des Tierversuches, ist aber die vorher angeführte Kontrolle durch leicht anwachsende, aërobe Bakterien (Heubazillensporen) vorzuziehen.

c) Wirkungsweise der Giftlösung im Tierversuche.

Injiziert man Meerschweinchen die tödliche Giftmenge unter die Haut, so treten eine Reihe typischer Erscheinungen auf, die im wesentlichen, wie auch schon Dünschmann hervorhob, an die Symptomatologie der Rauschbrandinfektion erinnern.

---

[1]) Der Vollständigkeit halber ist in unseren Protokollen mancher Versuch aus der ersten Zeit aufgenommen, in dem nicht völlig keimfreie Filtrate zur Anwendung kamen. Hierbei gingen gelegentlich Tiere an Rauschbrandinfektion zugrunde. Gerade solche Mißerfolge liefern den Beweis, wie wichtig im vorliegenden Falle ein absolut verläßlich arbeitendes Filtrationsverfahren ist.

Selbstverständlich wurden bei allen Eichungen etc. nur absolut keimfreie Filtrate verwendet.

Bei Meerschweinchen — die sich für die Erprobung der Giftlösung am besten eignen — zeigt sich bereits nach wenigen Stunden in der Umgebung der Injektionsstelle eine teigige oder pralle Schwellung, die rasch zunimmt und sich in 8 bis 10 Stunden, wenn unter die Bauchhaut injiziert wurde, über die Unterseite des Tieres bis zum Halse erstreckt. Hierbei kommt es frühzeitig zu punkt- und streifenförmigen Hämorrhagien in der Haut. Die Schwellung ist schmerzhaft und behindert das Tier in seinen Bewegungen.

Freßlust, Munterkeit nehmen rasch ab. Einer anfänglichen leichten Temperatursteigerung folgt Temperaturabfall; das Tier sitzt in kauernder Stellung mit gesträubten Haaren und führt zeitweise an Ort und Stelle langsam tänzelnde Bewegungen aus. Die Reflexerregbarkeit ist gesteigert, und es zeigt sich ein blutig seröser Ausfluß aus Mund und Nase, als Zeichen beginnenden Lungenödems. Bald darauf (2 bis 4 Tage nach der Infektion) tritt der Tod ein.

Bei der Sektion findet man eine reichliche Ansammlung blutig seröser Flüssigkeit im Unterhautzellgewebe, Ergüsse in die Körperhöhlen und seröse Durchfeuchtung der Lungen. Das Herz ist gewöhnlich dilatiert, die Herzmuskulatur schlaff. (Die feineren mikroskopischen Veränderungen werden bei einem anderen Anlaß beschrieben werden.)

Durch Injektion multipler tödlicher Dosen unter die Haut kann die Krankheitsdauer auf 6 bis 7 Stunden abgekürzt werden, bei kleineren Giftmengen, die unter der tödlichen liegen, treten alle Erscheinungen in leichterem Grade auf, es erfolgt Ausgang in Genesung, wobei es oft zur Nekrose der Haut und zur Narbenbildung an der Injektionsstelle kommt. Wird mit der Dosis noch weiter herunter gegangen, so fehlen Allgemeinerscheinungen vollständig, es zeigen sich nur Schwellungen mit oder ohne Hämorrhagien, die entweder spurlos schwinden oder zur Nekrose führen. Der Substanzverlust heilt mit Narbenbildung aus.

Injiziert man die tödliche Giftdosis Meerschweinchen intraperitoneal, so treten die Allgemeinerscheinungen rascher ein, ohne daß aber eine höhere Empfindlichkeit der Tiere bei dieser Art der Einverleibung konstatiert werden könnte. In der Bauchhöhle kommt es hierbei zur Ansammlung einer hämorrhagisch-serösen Flüssigkeit.

Versuche mit intravenöser Einverleibung wurden bei Meerschweinchen nur in geringer Zahl angestellt. Diese wenigen Versuche zeigten hinsichtlich der Höhe der tödlichen Dosis keine Verschiedenheit gegenüber der subkutanen und intraperitonealen Injektion an.

An Meerschweinchen nahmen wir auch die Eichung der Giftlösungen vor. Es konnte dies mit großem Vorteile geschehen, da diese Tierspezies in recht gleichmäßiger Weise gegenüber dem Rauschbrandtoxin empfänglich ist. Größere und ältere Tiere, die entschieden schwieriger mit Rauschbrand zu infizieren sind, erliegen — die einverleibte Giftmenge auf die Gewichtseinheit bezogen — eher leichter dem Toxin als jüngere. Selbstverständlich wurde bei den vergleichenden Versuchen darauf geachtet, daß Tiere gleicher Größe gewählt wurden. Wir bevorzugten junge Tiere von 200 bis 300 *g* Körpergewicht. Nach Vervollkommnung der Technik der Giftherstellung fanden wir, daß eine Giftlösung, von der 0·01 cm^3 bei subkutaner Injektion Meerschweinchen im Gewichte von 200 bis 250 *g* tötete, als Normalgiftlösung angesehen werden kann, obwohl nicht selten wesentlich stäker wirksame Filtrate gewonnen werden konnten, die in der Dosis von 0·001 und selbst 0·0005 cm^3 in wenigen Tagen den Tod der Meerschweinchen herbeiführten. Einige Schwierigkeit verursachte bei er Bestimmung der tödlichen Minimaldosis für Meerschweinchen die Fixierung der Krankheitsdauer, da nicht selten, ähnlich wie bei anderen Intoxikationen, langsamer Verlauf und — ausnahmsweise — spät unter kachektischen Symptomen erfolgender Tod gesehen wurden. Hierbei wurde auch festgestellt, daß öfters bei Injektion der nämlichen Giftlösung in gleicher Dosis die einzelnen Versuchstiere hinsichtlich der Dauer des Krankheitsverlaufes ein abweichendes Verhalten aufwiesen, insoferne der Tod bei manchen Tieren nach 24, bei andern nach 48, selbst erst nach 60 bis 72 Stunden eintrat. Wir legen daher größeres Gewicht auf die Bestimmung der kleinsten tödlichen Menge einer Gifltlösung und fixieren nicht strikte die Zeit bis zum Eintritt des Todes.

Kaninchen sind sehr empfänglich für das Rauschbrandgift. In besonders anschaulicher Weise ließen sich hier die Wirkungen der intravenösen Injektionen demonstrieren, die

unter ganz typischen Erscheinungen, binnen 1 Stunde bis 2—3 Tagen, den Tod der Tiere herbeiführten. Injiziert man ein vielfaches der tödlichen Dosis einem Kaninchen in eine Ohrvene, so macht sich nach einer bis mehreren Stunden, bei kleineren Dosen (0·0005 cm^3 10fach Normalgiftlösung töteten in 48 Stunden) entsprechend später, als erstes Krankheitssymptom eine gewisse Unruhe der Tiere bemerkbar, welche dieselben zwingt, ihren Käfig zu verlassen. Sie kauern dann vor demselben oder durchsetzen in Sprüngen den Raum, bis sie plötzlich von Lähmungen der hinteren Extremitäten befallen werden und unmittelbar daran anschließend unter Schreien und Krämpfen verenden. Bei der Sektion zeigt sich als regelmäßiger Befund akutes Lungenödem und Ansammlung von Flüssigkeit im Brustraum. Auffallend ist hier die Regelmäßigkeit der Inkubationszeit, beziehungsweise der Krankheitsdauer, entsprechend der Höhe der injizierten Giftdosis. Es sei aber in Hinblick auf die Angaben der französischen Autoren, die gelegentlich den Tod ihrer Kaninchen (ebenso wie von Pferden) schon nach wenigen Minuten eintreten sahen, betont, daß selbst bei Injektion von 7 cm^3 Normalgiftlösung (der mehr als 1000fach tödlichen Minimaldosis) die ersten Krankheitserscheinungen erst 1 Stunde nach erfolgter Injektion sich zeigten. Es widerspräche auch den Anschauungen über die Wirkungsweise der Bakteriengifte, wenn die Fixierung des zirkulierenden Giftes in den empfindlichen Zellen so überaus rasch erfolgte (die Dauer der Inkubation hat bekanntlich Ehrlich als Stütze für seine Hypothese benutzt).

Die Kaninchen reagierten durchschnittlich auch prompt gegen subkutan beigebrachte Giftlösungen. Die Beurteilung wurde nur dadurch erschwert, daß öfters Tiere 6 bis 8 Tage nach der Injektion von Giftmengen, die unterhalb der in der Regel tödlichen Dosis liegen, eingingen.

Bei der geringeren Widerstandsfähigkeit der Kaninchen und dem verhältnismäßig häufigen Eintreten von Sekundärinfektionen waren solche Fälle oft nicht leicht zu deuten.

Im allgemeinen schien aus den Versuchen hervorzugehen, daß etwa 0·1 bis 0·2 cm^3 Normalgiftlösung als die für mittelgroße Tiere in der Regel tödliche Dosis anzusehen sind. Die Empfindlichkeit der Kaninchen gegenüber subkutan applizierten

Giftlösungen kommt also so ziemlich jener der Meerschweinchen gleich.

Die Sektion der nach subkutaner Injektion eingegangenen Tiere ergab den oben erwähnten Befund. Die Veränderungen im Unterhautzellgwebe glichen in nicht komplizierten Fällen denjenigen, die beim Meerschweinchen gesehen werden.

In gleicher Weise wie Kaninchen und Meerschweinchen waren auch alle anderen in den Bereich der Versuche gezogenen Warmblüter für die Wirkung des Rauschbrandgiftes empfänglich.

Affen, Hunde, Igel, Mäuse, Hühner, Tauben gingen nach subkutaner Einverleibung der, im allgemeinen nach dem Kilogramm Meerschweinchengewicht berechneten, tödlichen Minimaldosis in 24 bis 48 Stunden zugrunde.

Besondere Beachtung schenkten wir dem Verhalten des Rindes und des Schafes im Hinblick auf die später zu erörternden Fragen der Schutzimpfung gegen den Weiderauschbrand. Der munifizenten Unterstützung durch die österreichische Regierung danken wir es, daß wir hier reichere Erfahrungen sammeln konnten, als es in Anbetracht der kostspieligen Versuchstiere sonst möglich gewesen wäre.

Kälber und Jungrinder sind für das Rauschbrandgift sehr empfänglich. Wir haben an verschiedenen Rassen, Oberinntalern, kroatischen und bosnischen Rindern, Niederungsvieh und Tieren mit Allgäuer und Pinzgauer Einschlag experimentiert und fanden nur vereinzelt bei 4- bis 5monatlichen Kälbern (siehe Schutzimpfungsversuch I) eine auffallende Unterempfindlichkeit.

Die Erscheinungen der Giftwirkung, nach erfolgter subkutaner Injektion nicht tödlicher Dosen, bestehen vor allem in dem Auftreten einer Schwellung in der Gegend der Impfstelle, die sich je nach der Menge des einverleibten Giftes verschieden weit erstreckt, mitunter auch auf die andere Seite übergreift, nach Tagen bis Wochen aber bei ungestörtem Verlauf wieder vollständig, ohne bleibende Spuren zu hinterlassen, schwindet. Nur in vereinzelten Fällen, bei Injektion der nahezu tödlichen Giftdosis, die enorme Schwellungen im Gefolge hatte, trat bei Kälbern Nekrose der Haut und der angrenzenden Muskelpartien mit konsekutiver Narbenbildung ein (Schutzimpfungsversuch I).

Anläßlich einer etwas voreilig vorgenommenen Probeimpfung von 200 Oberinntaler Kälbern (derselbe Versuch) konnten wir die Erscheinungen des Gifttodes bei 23 infolge der Impfung zugrunde gegangenen Tieren studieren. Die Giftlösung war in diesem Falle beiläufig von der Stärke einer Normalgiftlösung gewesen.

Schon 8 bis 10 Stunden nach der hinter der linken Schulter vorgenommenen Impfung traten an der Injektionsstelle Schwellungen auf, die sich rapid ausbreiteten und sich am nächsten Tage bis in den Triel und die Unterbrustgegend erstreckten. Die Kälber zeigten nach 24 Stunden schwere Allgemeinerscheinungen, hohes Fieber (bis zu 41°), vollständiges Darniederliegen der Freßlust und Sistieren des Wiederkauens. Bei einer Anzahl von Tieren, die anscheinend besonders empfindlich waren, trat profuser Schweißausbruch auf, es kam zu schweren Kollapszuständen, die in den meisten Fällen nach kurzdauernden Remissionen zum Tode führten.

Die Mehrzahl dieser 23 Impflinge starb aber erst nach 5 bis 6 Tagen unter den Erscheinungen exsudativer Pleuritis, nachdem schwere Diarrhöen aufgetreten waren und die Schwellungen in einer derart exorbitanten Weise zugenommen hatten, daß sie jede Bewegung des Tieres hemmten. Bei der Sektion zeigten sich außer den sulzig-hämorrhagischen Infiltrationen des Unterhautbindegewebes und der Muskulatur an der Impfstelle, vorwiegend entzündliche Veränderungen des Brustfelles mit reichlichen, blutig-fibrinösen Exsudatmassen in der Brusthöhle.

Wir konnten später in einem Laboratoriumsversuche feststellen, daß für ein Jungrind 40 cm^3 Normalgiftlösung die tödliche Dosis darstellte.

Der Verlauf gestaltete sich hier folgendermaßen. Wenige Stunden nach der Injektion zeigte das Rind bereits Krankheitserscheinungen. Es verweigerte das Futter. An der Injektionsstelle entwickelte sich eine rasch zunehmende Schwellung. Am nächsten Tag erscheint das Tier verhältnismäßig munter, sucht nach Futter. Nur der Puls ist schwach und beschleunigt. Die Geschwulst ist wesentlich größer geworden. Nachmittags kollabiert das Rind plötzlich und geht nach wenigen Stunden ein. Die Sektion bot die gewöhnlichen Veränderungen, Lungenödem, Erguß in die Brustfellräume. Subkutan ein umfangreiches.

aber scharf abgegrenztes, sulziges Infiltrat. Interessant war in diesem Falle, daß die aus der Sulze ausgepreßte, sterile (siehe Protokoll) Flüssigkeit noch freies Gift enthielt. 1 cm^3 tötete ein Meerschweinchen in 48 Stunden.[1])

Die Versuche an Schafen ergaben, daß für mittelgroße Tiere eine Dosis von etwa 2 cm^3 Normalgiftlösung die tödliche ist. Die Empfänglichkeit schien eine durchaus gleichmäßige zu sein, und es ergaben sich auch in Hinsicht auf Rasse, Alter etc. keine auffallenden Unterschiede. Die klinischen und anatomischen Erscheinungen decken sich im allgemeinen mit jenen, die bisher besprochen wurden. Ausgedehnte, mit schweren Hämorrhagien verbundene Schwellungen an der Impfstelle (Blöße in der Achselhöhle), Hämorrhagien unter dem Endokard und im Herzfleisch, Ergüsse in die Körperhöhlen; von Allgemeinsymptomen fast regelmäßig ein plötzlich beginnender Kollaps charakterisieren die Giftwirkung.

Wie die meisten der bisher bekannten Bakteriengifte ist das Rauschbrandgift Kaltblütern gegenüber wirkungslos. Frösche erhielten bis zu 7 cm^3 Normalgiftlösung in den Rückenlymphsack eingespritzt, ohne im geringsten geschädigt zu werden. Auch Fische (Schleien) ertrugen wiederholte Injektionen großer Dosen, ohne irgend welche Krankheitserscheinungen zu zeigen. Versuche, das Gift im Körper der 4 Tage nach der Applikation getöteten Frösche nachzuweisen, zeigten, daß die Muskulatur kein Gift enthielt, hingegen rief ein kleines Stückchen Leber, einem Meerschweinchen subkutan beigebracht, eine starke Anschwellung mit Nekrose der Epidermis hervor. Gründlichere Erfahrungen über die Magazinierung des Giftes im Organismus des unempfindlichen Tieres fehlen uns aber noch bisher.

d) Verhalten der Giftlösung gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen.

Wir haben anläßlich der Darstellung der Giftlösung schon darauf hingewiesen, daß die sogenannten festen Filter sich für die Trennung der Kulturflüssigkeit von den Bakterien

[1]) Im Gegensatz hierzu konnten wir in einem Falle von Impfrauschbrand zeigen, daß der mittels Filtration (Klärpulver) von den Bakterien befreite Preßsaft des rauschbrandigen Gewebes bei Meerschweinchen, in der Dosis von 1 bis 3 cm^3 injiziert, nur geringfügige Schwellungen hervorrief.

nicht eignen. Filtriert man die nach unserem Verfahren gewonnene Giftlösung durch Pukallfilter oder Chamberlandkerzen, so ergibt sich eine fast vollständige Entgiftung der Lösung. Insbesondere die stark gebrannten Pukallfilter halten in hohem Maße das Gift zurück. Nicht viel besser sind die Resultate bei Verwendung der sogenannten Delphinfilter. Auch hier wurde die Wirksamkeit der Lösung stark beeinträchtigt. Aus diesem Verhalten kann wohl auf eine besondere Größe des Rauschbrandgiftmoleküls geschlossen werden, wenigstens erscheint uns eine andere Erklärung als die Annahme eines mechanischen Zurückgehaltenwerdens der Giftmoleküle an den Wandungen der Poren (durch Flächenattraktion) vorläufig nicht wahrscheinlich. Ein Analogon hierfür bietet vielleicht das Verhalten des Gonokokkentoxins, das gleichfalls die festen Filter nicht passieren soll.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Giftlösung läßt das Gift völlig intakt. Wir benutzten zur Zeit der strengen Winterkälte diese Eigenschaft, um die Giftlösung verläßlich zu konservieren (s. a. w. u.). Inwieweit durch den Prozeß des Einfrierens eine Entmischung der Lösung in bezug auf den Giftgehalt erfolgt, haben wir bisher nicht untersucht.

Unterwirft man die Giftlösung der Dialyse in Pergamentschläuchen bis zum völligen Verschwinden der Chlorreaktion, so nimmt die Wirksamkeit der Lösung nur um ein ganz geringes ab. Die Dialyse wäre deshalb gewiß zweckmäßig zur Vorbereitung der Giftlösung für die Reindarstellung des Toxins, da auch die färbenden Bestandteile der Lösung (Karamel und die Farbstoffe der Bouillon) durch dieselbe fast völlig entfernt werden, und die minimale Trübung, die der Dialysierrückstand aufweist, durch Filtration leicht beseitigt werden kann.

Starke Belichtung der Toxinlösung durch direktes Sonnenlicht, bei Absorption der Wärmestrahlen durch eine Wasserschicht, alterierte in einem Versuche bei 2stündiger Einwirkung die Giftigkeit der Lösung nur in geringem Grade. Erfahrungen über den Einfluß länger dauernder Einwirkung des Lichtes fehlen uns vorderhand.

Versuche, durch Eindampfen im Vakuumsiedeapparat (bei 30° C.) die Giftlösung zu konzentrieren, schlugen fehl. Auch wenn während des Siedens ein Kohlensäurestrom durch

die Flüssigkeit geleitet wurde (der schädigende Einfluß des Sauerstoffes der Luft demnach ausgeschaltet wurde), nahm der Wirkungswert der Giftlösung stark ab. Im Gegensatz hierzu konnte durch Einengen der vorher in Eis gekühlten Giftlösung im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure die Giftwirkung ungeschmälert erhalten werden, derart, daß der trockene Rückstand, in der entsprechenden Menge sterilen Wassers gelöst und auf das frühere Volum gebracht, eine Flüssigkeit lieferte, die im Titer der ursprünglichen Giftlösung gleich war. Die genannten Versuche waren, beiläufig gesagt, für die Anstellung der Tierversuche bedeutungslos, da unsere Lösungen von Haus aus derart wirksam waren, daß sie für die meisten Versuche weitgehend verdünnt werden mußten.[1])

Was die Frage nach dem Verhalten der Giftlösung gegenüber der Einwirkung höherer Temperaturen betrifft, so wurde schon oben erwähnt, daß Leclainche und Vallée auf Grund eigener Versuche und der Rouxschen Experimente zur Ansicht gelangten, daß das Rauschbrandtoxin sehr hitzebeständig ist, während Dünschmann, dessen Anschauung von den genannten Forschern nicht berücksichtigt worden ist, von der Zerstörung der aktiven Substanz durch Hitze spricht.

Unsere Erfahrungen über die Einwirkung der Hitze auf das Rauschbrandgift sind durchaus eindeutig. Wir können mit Bestimmtheit angeben, daß das Rauschbrandtoxin in dieser Hinsicht sehr empfindlich ist und bereits durch 1stündiges Erwärmen auf 50^0 C. fast vollständig zerstört wird.

Nur bei Anwendung sehr großer Dosen (7 bis 10 cm^3) erwärmter Giftlösung treten bei Meerschweinchen (subkutane Einverleibung) gelegentlich Schwellungen auf, die aber durchwegs in kurzer Zeit sich ohne mitlaufende Krankheitserscheinungen zurückbilden. Es stehen diese Erfahrungen in gutem Einklang mit den Kenntnissen über die bisher bekannten echten Bakterientoxine, die alle thermolabil sind. Auch die weiter unten zu würdigenden Erfahrungen über geringe Haltbarkeit, Empfindlichkeit des Toxins gegenüber chemischen Agentien, lassen die

[1]) Giftlösungen, die tropfenweise auf den Boden von Glasschalen gebracht und im Brutschrank bei 38^0 eingetrocknet wurden, büßten ihre Wirksamkeit gänzlich ein.

von den französischen Forschern supponierte Resistenz der Rauschbrandgiftlösungen bei Einwirkung höherer Temperaturen sehr merkwürdig erscheinen.

Der Widerspruch mit den Angaben von Leclainche und Vallée wird kaum darin seine Erklärung finden, daß die französischen Autoren den Rauschbrandbazillus in einem anderen Nährboden züchteten (Bouillon Martin). Da dieser Nährboden gleichfalls reichlich Albumosen und Peptone enthält, dürften prinzipielle Unterschiede nicht vorliegen. Wir glauben übrigens, daß Leclainche und Vallée, welche selbst angeben, daß von ihren 10 Minuten lang auf 115° C. erhitzten Lösungen 8 *cm*³ (!) das Tier erst nach 8 Tagen töteten, nicht berechtigt waren, von hochgradiger Hitzebeständigkeit des Toxins zu sprechen. Wahrscheinlich waren hier ganz andere Substanzen als spezifische Toxine für die letale Wirkung anzuschuldigen.

Die Labilität des Rauschbrandgiftes bedingt es, daß die Giftlösungen keineswegs unbegrenzt haltbar sind. Gelegentlich schon nach Tagen, meist nach Wochen, nimmt die Wirksamkeit derselben ab, selbst bei Aufbewahrung der luftdicht verschlossenen Proben in der Kälte. Mitunter erfolgte die Abnahme der Toxizität ungewöhnlich langsam, in seltenen Fällen so rapid, daß der Titer der Giftlösung in wenigen Stunden auf $^1/_{10}$ oder $^1/_{20}$ herabging.

So sank in einem Fall der Titer einer 2 Tage vorher filtrierten, mäßig wirksamen Giftlösung von mittags 12 Uhr bis abends 6 Uhr desselben Tages derart, daß nunmehr 0·5 *cm*³ völlig wirkungslos waren, während 6 Stunden vorher die tödliche Minimaldosis (der Tod erfolgte nach Auftreten ausgedehnter Schwellungen in 3 Tagen) 0·05 *cm*³ betrug.

In gleicher Weise wie beim Lagern tritt auch eine Abnahme der Wirksamkeit ein, wenn die Giftlösungen mit Luft imprägniert werden. Wir füllten zu diesem Zwecke eine kleine Quantität in eine Flasche, welche eine Portion Glasperlen enthielt, und schüttelten durch $^1/_2$ Stunde bis 1 Stunde kräftig durch.

Auch hier zeigten verschiedene Giftlösungen bei annähernd gleichem ursprünglichen Titer verschieden weitgehende Abnahme der Aktivität. Von Haus aus besonders wirksame Lösungen waren allerdings in der Regel weniger empfindlich.

Während für die Abnahme der Wirksamkeit der Lösungen beim Schütteln mit Luft offenbar die oxydierende Einwirkung des Sauerstoffes die entscheidende Rolle spielt, muß dies für die Abnahme beim Lagern noch dahingestellt bleiben. Da Giftlösungen, die unmittelbar nach der Filtration mit Kohlensäure gesättigt und sofort in Kapillaren eingeschlossen wurden, in der gleichen Zeit unwirksam wurden, müßten bereits Spuren von Sauerstoff bei länger dauernder Einwirkung schädlich wirken. Bei der Kompliziertheit der Verhältnisse wird man sich allerdings mit dem Hinweis auf die Tatsachen begnügen, besonders da unsere Kenntnisse über die Zusammensetzung der Giftlösungen und über die Einflüsse, welche zu molekularen Umlagerungen und Spaltungen führen, trotz manchen Fortschrittes in der letzten Zeit im allgemeinen noch recht dürftige sind.

Versetzt man die Giftlösungen mit einer Reihe von chemisch wirksamen Substanzen, die erfahrungsgemäß auf andere Toxine eine Einwirkung ausüben, so ergeben sich folgende Tatsachen. 1·5‰ Kaliumpermanganatlösung zerstört das Gift bereits nach 24stündiger Einwirkung in der Kälte. Auffallend ist die große Empfindlichkeit des Giftes gegenüber der Karbolsäure, die in 1%iger Lösung in derselben Zeit das Gift zerstört. 1‰ Formaldehydlösung bewirkte in 24 Stunden nur eine Abnahme des Titers der Giftlösung.

Chloroform erwies sich, wie in zahlreichen Versuchen festgestellt wurde, ganz unschädlich, so daß wir uns seiner vielfach für die Konservierung der Lösungen bedienten.

Die eben erörterte große Empfindlichkeit des Giftes gegenüber chemischen Substanzen offenbarte sich auch bei unseren Versuchen, das Gift durch Fällungen aus der Lösung zu konzentrieren. Wir versuchten zunächst, die Filtrate durch schwefelsaures Ammon auszusalzen, ein Verfahren, das im allgemeinen als schonend und wenig eingreifend gilt. Bei dieser Prozedur wurde das Gift jedenfalls stark geschädigt, denn es ließ sich weder in der Lösung noch im Niederschlag in Erfolg versprechender Menge mehr nachweisen.

Auch Fällungen mit Alkohol und Alkohol-Äther gaben so wenig befriedigende Resultate, daß nur ein sehr eingehendes, spezielles Studium zu einer weiteren Isolierung des wirksamen Prinzips führen dürfte.

e) Tierversuche über den Einfluß wiederholter Toxininjektionen.

Injiziert man wiederholt Meerschweinchen subkutan nicht-tödlicheDosen einer Rauschbrandgiftlösung, so tritt niemals, man mag die Versuchsbedingungen in der mannigfachsten Weise variieren, eine Giftfestigung ein. Meerschweinchen, die nach Einverleibung krank machender Dosen starke Schwellungen bekamen, waren nach dem Zurückgehen derselben bei neuerlicher Behandlung mit Giftlösung eher überempfindlich und reagierten sowohl lokal als auch im Allgemeinbefinden stärker darauf, als nicht vorbehandelte Tiere. Auch Injektionen kleiner Mengen Giftes, die keine oder nur geringe Reaktionserscheinungen hervorriefen, schützten nicht vor der nachfolgenden tödlichen Intoxikation, ebensowenig gelang es durch Einverleibung gelagerter oder erwärmter Giftlösungen Giftimmunität zu erreichen.

Es wäre vielleicht am Platze gewesen, mit modifizierten oder anderweitig „abgeschwächten" Giftlösungen einen Versuch zu machen. Doch verschafften uns bald noch später zu besprechende Erfahrungen die Überzeugung, daß eine aktive Immunisierung des Meerschweinchens (wegen zu hoher Giftempfindlichkeit der giftbindenden Organzellen?) auf dem gewöhnlichen Wege nicht zustande gebracht werden kann.

Verhältnismäßig leicht, wenn auch nicht ohne gelegentliche Unfälle, gestaltet sich die Immunisierung der Kaninchen gegen das Rauschbrandgift.

Eine Überempfindlichkeit infolge vorausgegangener Toxininjektionen sahen wir hierbei niemals zustande kommen.

In einem Falle gelang die Steigerung der Giftresistenz in derart hohem Maße, daß wiederholt subkutane Injektionen von 30 *cm*³ einer zehnfachen Normalgiftlösung (= mehr als die 1000fach tödliche Dosis) — abgesehen von leichten örtlichen Schwellungen — reaktionslos vertragen wurden.

Die Immunisierung durch intravenöse Injektionen, die uns aussichtsvoll zu sein scheint, haben wir bisher nicht zu Ende führen können.

Besonders glatt verlief — und dies rief in uns zuerst den Gedanken an die Durchführung einer Schutzimpfung gegen den Rauschbrand wach — die Giftimmunisierung der Rinder.

Bereits nach einer Injektion, vorausgesetzt, daß stärkere Reaktionserscheinungen eingetreten waren, erwarben die Rinder einen merkbaren Schutz vor dem Rauschbrandgifte, der sich nach 2- bis 3maliger Wiederholung der Behandlung in steigender Dosis nunmehr auffallend rasch und ganz wesentlich verstärken ließ. Wie aus den Protokollauszügen des näheren ersichtlich ist, bewirkten 3- bis 4malige Injektionen von im ganzen 60 bis 70 cm^3 Normalgiftlösung bereits eine derartige Giftimmunität, daß Dosen von 300, selbst 1000 cm^3 Normalgiftlösung ertragen wurden, ohne daß — von minimalen örtlichen Schwellungen abgesehen — irgend welche Krankheitssymptome sich gezeigt hätten.

Die Festigung gegen das Gift tritt anscheinend ziemlich rasch ein. Man tut natürlich gut, unter allen Umständen den völligen Ablauf der Reaktionserscheinungen, die aber in nennenswertem Maße nur nach der ersten Injektion auftreten, abzuwarten, ehe man die nächste Injektion vornimmt. In der Regel waren Intervalle von etwa einer Woche hierzu ausreichend. Besonders hervorhebenswert ist es, daß es für den Effekt ganz gleichgiltig war, ob bei der Immunisierung vorsichtig oder brüsk vorgegangen wurde, und daß selbst nach dem Überstehen der schwersten Lokal- und Allgemeinerscheinungen niemals eine Überempfindlichkeit der Rinder gegenüber dem Gift zutage trat.

Das Rind ist deshalb, da Mißerfolge und Unfälle vollkommen ausgeschlossen werden können, ein sehr geeignetes Versuchstier für das Studium des Rauschbrandtoxins.

Protokollauszüge zu *A*.

a) Herstellung der Kulturen und Gewinnung der Giftlösung.

1) 800 cm^3 Bouillon mit 1% Pepton, 10 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern. Wachstum erst nach neuerlich vorgenommener Aussaat beginnend. Nicht stürmische, durch Wochen andauernde Gärung mit deutlich abgegrenzter primärer Gärung und Nachgärungsphase. Nach 23 Tagen über Klärpulver filtriert. Ein Teil chemisch untersucht. Als Gärprodukte nur flüchtige Säuren gebildet, keine Milchsäure. Stark wirksame Giftlösung. 0·01 cm^3 tötet ein Meerschweinchen in 24 Stunden.

2) 800 cm^3 Bouillon mit 1% Pepton und 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern. Ziemlich stürmische Gärung. Mikroskopisch erst Klostridien und Einzelstäbchen, später Ketten und Fäden ohne

Granulose. Nach 10 Tagen 100 *cm*³ entnommen und filtriert. 0·05, 0·1, 0·5 *cm*³ wirkungslos. Nach 21 Tagen filtriert. Filtrat sehr wirksam; 0·02 *cm*³ töten ein Meerschweinchen in 36 Stunden.

3) 800 *cm*³ Bouillon mit 1%₀ Pepton, 30 *g* Dextrose und 15 *g* Kalzium-Laktat, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern. Stürmisch einsetzende Gärung, die sich verstärkt. Als Bodensatz in der Flüssigkeit erbsengroße, flockige Klumpen, die aus Kreide und zusammengeballten Massen von Klostridien bestehen. Die Zooglöen zerfallen nach 48 Stunden, es finden sich, in Detritus und freie Granuloseklümpchen eingeschlossen, massenhaft freie Sporen, vereinzelt gut färbbare, granulosefreie Stäbchen. Wie eine Probe nach dem Filtrieren zeigt, ist kein Gift in Lösung. Die Gärung sistiert fast völlig, erst nach weiteren 2 Tagen beginnt dieselbe von neuem und steigert sich derart, daß die Flüssigkeit von der beständig emporgewirbelten Kreide ein milchiges Aussehen gewinnt. 8 Tage nach der Aussaat Gärung beendet. Mikroskopisch eine neue Generation sichtbar, die neben dickeren Stäbchen, die zu zweit oder dritt aneinander gelagert sind, Konvolute von längeren Ketten und Fäden enthalten. Die chemische Untersuchung zeigt die völlige Vergärung des Kalziumlaktats. Jetzt reichlich Gift in Lösung. (0·02 *cm*³ töten ein Meerschweinchen in 10 Stunden.)

4) 800 *cm*³ Bouillon mit 10 *g* Pepton, 10 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern. Denaturiert (siehe oben). Sehr langsame Gärung, die aber kontinuierlich verläuft. Mikroskopisch während der ersten 2 Wochen nur regelmäßige, gut färbbare Stäbchen, keine Klostridien, keine sporulierenden Zellen. Kein Gift in Lösung. Am 4. Tage verstärkt sich die Gärung etwas und nimmt des weiteren langsam zu. Mikroskopisch Ketten und Fäden, die reichlich Granulose einlagern. Nach 17 Tagen mikroskopisch Konvolute von Fäden, die durchgehends mit Jod dunkelbraun-violett fleckig gefärbt werden. Sporen jedenfalls nur in geringer Anzahl vorhanden, aber biologisch nachweisbar. (Dieser Befund bietet ein schönes Beispiel für den seltenen Fall, daß weitgehend denaturierte Zustände bei protrahierter Gärung rückschlagen.) Gift in Lösung nachweisbar (0·03 *cm*³ töten ein Meerschweinchen in 24 Stunden).

5) 800 *cm*³ Bouillon mit 20 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern. Stürmische Gärung, später Nachgärung. Nach 16 Tagen filtriert. 0·02 *cm*³ des Filtrats machen schwere Erscheinungen, 0·05 *cm*³ töten ein Meerschweinchen.

6) 800 *cm*³ Bouillon mit 30 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern. Mäßig lebhafte Gärung, kontinuierlich. Mikroskopisch äußerst polymorphes Bild. Die chemische Untersuchung läßt reichlich flüchtige Säuren, geringe Mengen nicht flüchtiger Säuren nachweisen. Nach 11 Tagen (Gärung beendet) filtriert. 0·04 *cm*³ töten ein Meerschweinchen in 3 Tagen, 0·02 *cm*³ machen eine starke, später sich zurückbildende Schwellung.

7) 800 *cm*³ Bouillon mit 10 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus der Schweiz. Mäßig lebhafte Gärung mit schwach ausgeprägter Nachgärung. Mikroskopisch große Spindelformen, Fäden und Ketten. Nach 14 Tagen Gärung beendet, im Filtrat reichlich Toxin (0·02 *cm*³ töten ein Meerschweinchen in 48 Stunden).

8) 800 cm^3 Bouillon mit 10 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Niederösterreich. Wachstum beginnt erst nach 48 Stunden, wenig stürmische Gärung. Regelmäßige, gut färbbare Stäbchen, ohne Granulose und Sporen. Nach 15 Tagen im Filtrat noch kein Gift nachweisbar. Am 17. Tage deutliche Nachgärung, die sich verstärkt. Mikroskopisch reichlich Fäden, dicht verschlungen, in großer Ausdehnung mit Granulose erfüllt. Nach 21 Tagen filtriert. 0·01 cm^3 tötet ein Meerschweinchen in 20 Stunden.

9) 800 cm^3 Bouillon mit 10 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Amerika. Äußerst lebhafte Gärung. Mikroskopisch regelmäßige Stäbchen mit spärlichen Klostridien und Fäden. Nach 6 Tagen filtriert. 0·005 cm^3 töten in 48 Stunden ein Meerschweinchen.

10) 800 cm^3 Bouillon mit 10 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Amerika. Äußerst lebhafte Gärung. Nach 16 Tagen verarbeitet. Mikroskopisch dicht verfilzte Fäden, ohne Granulose, ohne Sporen. 0·01 cm^3 tötet ein Meerschweinchen in 24 Stunden.

11) 800 cm^3 Bouillon mit 10 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Amerika. Nach 12 Stunden Beginn einer lebhaften Gärung, nach 20 Stunden 100 cm^3 filtriert. 0·01 cm^3 des Filtrates verursacht bei einem Meerschweinchen eine ausgebreitete Schwellung mit schweren Hämorrhagien.

12) 800 cm^3 Bouillon mit 10 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Amerika. Lebhafte Gärung, mikroskopisch regelmäßige Stäbchen, spärlich Sporenanlagen, vereinzelt reife Sporen (24 Stunden). 0·05 cm^3 der ganzen Kultur werden in diesem Stadium einem Meerschweinchen subkutan einverleibt. Bereits nach $1^1/_2$ Stunden beginnende Schwellung, die nach 7 Stunden die ganze Bauchseite des Tieres einnimmt. Schwere Hämorrhagien. Das Tier stirbt nach 24 Stunden; in der Ödemflüssigkeit zahlreiche Rauchbrandbazillen. Das Filtrat derselben Kultur ist völlig ungiftig, es verursacht keinerlei Krankheitserscheinungen.

13) 800 cm^3 Bouillon mit 10 *g* Pepton, 30 *g* Saccharose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Amerika. Stürmische Gärung. Mikroskopisch regelmäßige Stäbchen mit spärlichen Klostridien, später Fadenbildung. Nach 16 Tagen filtriert. 0·02 cm^3 töten ein Meerschweinchen in 48 Stunden.

14) 800 cm^3 Bouillon mit 10 *g* Pepton, 20 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern, denaturiert. Mikroskopisch nur Stäbchen während des ganzen Verlaufes der Gärung. Nach 7 Tagen wird eine Probe mit Chloroform geschüttelt und hierdurch, wie Kontrollimpfungen ergeben, vollständig sterilisiert. 0·05 cm^3 der Kultur rufen bei einem Meerschweinchen starke Schwellung hervor, die nach 5 Tagen zurückgeht. Das Filtrat der Kultur ist völlig ungiftig.

15) 800 cm^3 Bouillon mit 10 *g* Pepton, 30 *g* Dextrose, Kreide. Rauschbrandstamm aus Amerika. Äußerst stürmische, sich fortwährend verstärkende Gärung. Nach 3 Tagen eine Probe filtriert. 0·01 cm^3 verursachen eine intensive, mit schweren Hämorrhagien einhergehende Schwellung, das Tier erholt sich aber. Nach weiteren 4 Tagen intensiver Gärung wird neuerdings eine Probe filtriert. 0·02 cm^3 verursachen keine Reaktion, 0·05 cm^3 bedingen bei einem Meerschweinchen eine geringgradige Schwellung ohne Hämorrhagien.

16) 800 *cm*³ Bouillon mit 10 *g* Pepton, 15 *g* Kalzium-Laktat, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern. Lebhafte, feinblasige Gärung, die nach 6 Tagen beendet ist. Milchsäure vollständig vergoren. Vom Filtrat ruft bereits 0·001 *cm*³ Schwellungen mit Hämorrhagien hervor, 0·01 *cm*³ tötet ein Meerschweinchen in 48 Stunden.

17) 800 *cm*³ Bouillon mit 10 *g* Pepton, 15 *g* Kalzium-Laktat, Kreide. Rauschbrandstamm aus Bayern. Wenig lebhafte Gärung, die 5 Tage andauert. Mikrokopisch Ketten von Kurzstäbchen, ohne Sporen. Filtrat sehr stark wirksam. (0·02 *cm*³ töten ein Meerschweinchen in 24 Stunden.)

b) Verhalten der Giftlösung gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen.

1) 50 *cm*³ einer Normalgiftlösung werden durch ein Pukallfilter filtriert. Von der Lösung werden 0·2 und 1·0 *cm*³ Meerschweinchen subkutan injiziert. Beide Tiere bleiben ohne Schwellungen und verhalten sich in jeder Hinsicht normal.

2) 50 *cm*³ einer $^1/_5$ Normalgiftlösung werden durch eine Chamberlandkerze filtriert. 0·5 *cm*³ des Filtrates rufen bei einem Meerschweinchen keine Schwellung hervor.

3) 750 *cm*³ einer $^1/_5$ Normalgiftlösung werden durch ein Delphinfilter wiederholt filtriert. Vom Filtrate ruft 1 *cm*³ bei einem Meerschweinchen eine ziemlich beträchtliche Schwellung hervor, das Tier bleibt jedoch munter.

4) 500 *cm*³ einer $^1/_2$ Normalgiftlösung werden durch ein Delphinfilter filtriert. Nach der Filtration töten noch 0·2 *cm*³ ein Meerschweinchen (nachträgliche Prüfung des sehr ergiebig filtrierenden Steines ergab, daß er, Testobjekt: Prodigiosus, nicht absolut keimdicht war).

5) 2 *cm*³ einer Normalgiftlösung werden dreimal in einer Eis-Kochsalzmischung eingefroren und rasch aufgetaut. Wirksamkeit bleibt unverändert.

6) 5 *cm*³ einer $^1/_{10}$ Normalgiftlösung werden zweimal eingefroren und langsam auftauen gelassen. Eine Schädigung des Giftes trat nicht ein.

7) 20 *cm*³ einer Normalgiftlösung werden in einem Pergamentschlauche durch 4 Tage der Dialyse gegen destilliertes Wasser unterworfen. Hierbei nahm das Volumen der Flüssigkeit bis zirka 40 *cm*³ zu. Von der fast farblosen, leicht trüben Flüssigkeit werden 0·03 und 0·1 *cm*³ 2 Meerschweinchen injiziert. Die Tiere erkranken unter typischen Erscheinungen und gehen nach 4, beziehungsweise 2 Tagen zugrunde. Zur Kontrolle werden in einem Dialysierschlauche 20 *cm*³ Giftlösung ohne weiteres aufbewahrt. 0·03 bis 0·1 *cm*³ der wieder aufs Volum gebrachten Flüssigkeit töten Meerschweinchen nach 2 Tagen, beziehungsweise nach 1 Tag.

8) 2 *cm*³ einer 10fachen Normalgiftlösung werden in einem Kühlbade dem direkten Sonnenlicht durch 2 Stunden ausgesetzt. Keine Abnahme der Wirksamkeit.

9) 30 *cm*³ einer 10fachen Normalgiftlösung werden in einer Eis-Kochsalzmischung zum Einfrieren gebracht und hierauf im Vakuum über Schwefelsäure zur Sirupskonsistenz eingeengt. Der Rückstand wird wieder in 30 *cm*³ sterilen Wassers gelöst und die Lösung auf ihre Wirksamkeit geprüft. 0·1 *cm*³

tötet ein Meerschweinchen in 24 Stunden, 0·01 cm^3 in 48 Stunden, 0·001 cm^3 ruft eine starke Schwellung hervor, das Tier bleibt aber am Leben.

10) 150 cm^3 einer zirka $^1/_3$ Normalgiftlösung werden in einem Vakuumdestillierapparate auf 20 cm^3 eingeengt (bei Temperaturen um 30°), und gleichzeitig wird ein CO_2-Strom durch die Flüssigkeit gesaugt. Die Wirksamkeit der Giftlösung wurde fast völlig aufgehoben.

11) 10 cm^3 einer $^1/_2$ Normalgiftlösung werden im Wasserbade durch 1 Stunde auf 60° C. erwärmt, worauf 5 Meerschweinchen 0·03, 0·1, 0·3, 0·8 und 2 cm^3 der Lösung injiziert werden. Nur bei dem mit 2 cm^3 behandelten Tiere trat eine leichte Schwellung auf, die schon nach 48 Stunden völlig verschwunden war. Alle anderen Tiere zeigten nicht die geringste Veränderung.

12) 100 cm^3 einer Normalgiftlösung werden im Wasserbade 25 Minuten auf 70° C. erwärmt, hierauf werden von 8 Meerschweinchen je 4 subkutan, beziehungsweise intraperitoneal mit 2, 4, 7 und 10 cm^3 der erhitzten Lösung injiziert. Nur das mit 10 cm^3 behandelte Tier zeigte nach 24 Stunden eine starke, nässende Schwellung, die nach 6 Tagen ohne Narbenbildung verschwand. Alle anderen Tiere blieben normal und bekamen an der Injektionsstelle keinerlei Schwellung.

13) 10 cm^3 einer Normalgiftlösung, deren Wirksamkeit durch Lagern auf $^1/_5$ der ursprünglichen gesunken war, wurden $^1/_2$ Stunde auf 50° C. im Wasserbade erwärmt. 0·1 und 0·5 cm^3 riefen bei Meerschweinchen nicht die geringsten Veränderungen hervor.

14) 10 cm^3 einer 10fachen Normalgiftlösung wurden im Wasserbade 1 Stunde auf 45° C. erwärmt. 0·2 und 0·5 cm^3 riefen bei Meerschweinchen rapid zunehmende Schwellungen hervor. Der Tod der Tiere erfolgte nach 20 Stunden.

15) Eine Giftlösung wird unmittelbar nach der Filtration auf ihre Giftigkeit geprüft. 0·01 cm^3 verursacht starke Schwellung mit Hämorrhagien, 0·05 cm^3 töten ein Meerschweinchen in 4 Tagen. Die Giftlösung wird in der Kälte aufbewahrt. Am Tage nach der Prüfung erhalten 2 Meerschweinchen 0·2, beziehungsweise 0·5 cm^3 der aufbewahrten Lösung. Die Tiere zeigen keine Veränderungen. In diesem Falle hatte innerhalb 24 Stunden die Giftlösung ihre Wirksamkeit ganz eingebüßt.

16) Eine Giftlösung, die auch später bei Rindern für Immunisierungszwecke in Anwendung kam, tötete unmittelbar nach der Filtration in der Dosis von 0·01 cm^3 Meerschweinchen in 4 Tagen, in der Dosis von 0·02 cm^3 in 2 Tagen. Die Flasche wurde, nur mit Watte leicht verschlossen, in der Kälte durch mehr als 4 Wochen aufbewahrt und nach dieser Zeit neuerlich geprüft. Es töteten 0·05 cm^3 in 3, 0·1 cm^3 in $1^1/_2$ Tagen. Der Versuch bietet ein Beispiel für die gelegentlich zu beobachtende große Haltbarkeit von Giftlösungen.

17) Eine 10fache Normalgiftlösung wird 24 und 48 Stunden nach der Filtration jedesmal $^1/_2$ Stunde mit Glasperlen tüchtig durchgeschüttelt und unmittelbar nach dem letzten Schütteln geprüft. 0·05 cm^3 töteten noch ein Meerschweinchen in 48 Stunden, 0·035 und 0·02 cm^3 machten starke Infiltrate, 0·01 cm^3 verursachte nur noch eine geringgradige Schwellung. Die Abnahme der Giftlösung war demnach eine zirka 40fache (siehe auch später).

18) Eine Normalgiftlösung wird mit Glasperlen in einem großen Kolben intensiv durch $1/2$ Stunde geschüttelt. 0·1 *cm*³ der Lösung bewirkten dann bei Meerschweinchen geringfügige Infiltrate, 0·25 bis 1·0 *cm*³ starke Schwellungen ohne Hämorrhagien.[1]) Die Tiere blieben völlig munter. Die Abnahme der Toxizität war demnach eine mehr als 100fache (siehe auch später).

19) Eine Normalgiftlösung wird 25 Minuten mit Glasperlen intensiv geschüttelt. Nachher tötete noch 0·1 *cm*³ Meerschweinchen in 48 Stunden. Die Abnahme der Giftigkeit war in diesem Falle höchstens eine 10fache.

20) Eine zirka 5fache Normalgiftlösung wird portionenweise der Einwirkung von 1‰ Formaldehydlösung, 1% Karbolsäure und 1·5‰ Kaliumpermanganatlösung durch 24 Stunden (Proben in der Kälte aufbewahrt) überlassen. Hierauf werden 0·05 *cm*³ derselben, ebensoviel von einer nicht mit Zusätzen versehenen Probe, je einem Meerschweinchen injiziert.

Die mit Formaldehyd versetzte Probe tötete in der angegebenen Dosis in 2 Tagen, nachdem das Tier 24 Stunden nach der Injektion noch ziemlich munter gewesen war.

Die Karbolsäureprobe bewirkte nur eine leichte Schwellung. Hingegen war die mit Kaliumpermanganat behandelte Probe vollständig unwirksam geworden. Die Kontrollprobe tötete in 16 Stunden.

21) Von einer $1/2$ Normalgiftlösung werden 20 *cm*³ mit umkristallisiertem schwefelsauren Ammoniak ausgesalzen, der Niederschlag gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Filter samt Niederschlag wird mit lauwarmer, physiologischer Kochsalzlösung behandelt, wobei in kurzer Zeit Lösung der Fällung eintritt. 0·2 *cm*³ der Lösung rufen bei einem Meerschweinchen eine starke Schwellung hervor, doch bleibt das Tier am Leben.

22) Von einer $1/4$ Normalgiftlösung werden 800 *cm*³ mit schwefelsaurem Ammoniak gesättigt, der Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt und von der anhaftenden Flüssigkeit durch Absaugen und Waschen möglichst befreit, hierauf gepreßt und im Vakuum getrocknet. Das Pulver in der Dosis von 5 *mg* war Meerschweinchen gegenüber ganz wirkungslos.

23) Eine $1/2$ Normalgiftlösung wird mit absolutem Alkohol im Verhältnis von 1 : 10 gefällt. Der Niederschlag, der sich langsam absetzt, wird abfiltriert, getrocknet und in physiologischer Kochsalzlösung, der ursprünglichen Menge entsprechend, gelöst. 0·1 *cm*³ töten ein Meerschweinchen in 48 Stunden.

24) Eine Normalgiftlösung wird mit Alkohol-Äther ($\overline{aa}$) im Verhältnis von 1 : 10 gefällt. Der getrocknete Niederschlag war nach dem Wiederauflösen in physiologischer Kochsalzlösung unwirksam (0·1 *cm*³ und 0·5 *cm*³ wurden geprüft).

---

[1]) Es sei an dieser Stelle bemerkt, daß, wenn auch das Auftreten von hochgradigen Hämorrhagien im Gefolge von Injektionen **starker** Giftlösungen die Regel war, gelegentlich Giftlösungen mit hohem Titer, selbst bei tödlichen Dosen, auffallend wenig Hämorrhagien verursachten. In einem Falle ließ eine Giftlösung, die sich im frischen Zustande derart verhielt, im gelagerten Zustande, trotz geringer Abnahme der Wirksamkeit eine auffällige Steigerung der Hämorrhagien verursachenden Wirkung erkennen.

c) Wirkungsweise ein- und mehrmaliger Injektionen der Giftlösung im Tierversuche.

Versuche an Meerschweinchen.

1) 5 Meerschweinchen im Gewichte von 400 bis 500 *g* erhalten je 0·001 *cm*³ einer 1/10 Normalgiftlösung subkutan injiziert.

Keine Schwellung. Nach 5 Tagen neuerliche Injektion von 0·002 *cm*³ (derselben Lösung). Wieder ohne Reaktion. Nach einer Pause von 8 Tagen erhalten die Tiere je 0·005 *cm*³ einer Normalgiftlösung. Ziemlich ausgedehnte Schwellungen ohne Hämorrhagien. Nach weiteren 9 Tagen werden den 5 Tieren gleichzeitig mit 2 Kontrolltieren je 0·01 *cm*³ einer stark wirksamen Giftlösung injiziert. Die Kontrolltiere sterben nach 3 bis 4 Tagen, die vorbehandelten nach 2 bis 3 Tagen.

2) 3 Meerschweinchen im beiläufigen Gewicht von je 250 bis 300 *g* wird je 0·01 *cm*³ einer 1/2 Normalgiftlösung injiziert. Alle Tiere zeigen schwere Allgemein- und Lokalsymptome, erholen sich aber. Die Schwellungen gehen teilweise in Nekrosen über. Nachdem diese mit Narbenbildung ausgeheilt sind, erfolgen weitere Injektionen von je 0·01 *cm*³ einer zirka 1/3 Normalgiftlösung. Schwere Erscheinungen, 1 Tier stirbt nach 4 Tagen, die überlebenden und 1 Kontrolltier werden nach 8 Tagen mit 0·03 *cm*³ einer 1/2 Normalgiftlösung behandelt. Alle Tiere gehen nach 48 bis 60 Stunden ein.

3) 6 Meerschweinchen erhalten je 4 Injektionen steigender Dosen einer längere Zeit gelagerten Giftlösung. Irgend welche Reaktionserscheinungen werden nicht beobachtet. Nach 20 Tagen erliegen sämtliche Tiere der einfach tödlichen Dosis einer Normalgiftlösung.

4) 3 Meerschweinchen im beiläufigen Gewichte von 300 bis 400 *g* erhalten 3 Injektionen großer Dosen einer Giftlösung, die 1/2 Stunde auf 60° C. erwärmt worden war. Keine Reaktion. Nach 15 Tagen wurden zusammen mit 2 Kontrolltieren den Meerschweinchen je 0·02 *cm*³ einer zirka 1/2 Normalgiftlösung subkutan eingespritzt. Alle Tiere gehen unter typischen Erscheinungen nach 2 Tagen ein.

5) Von einer stark wirksamen Giftlösung erhalten 5 Meerschweinchen 0·03, 0·02, 0·01, 0·0075 und 0·005 *cm*³ subkutan, 5 andere Meerschweinchen die gleichen Dosen intraperitoneal injiziert, endlich werden weiteren 2 Tieren die gleichen Dosen in die Muskulatur des rechten Hinterbeines, sowie 2 Tieren 0·01, beziehungsweise 0·005 *cm*³ in die rechte Jugularvene eingespritzt.

Nachfolgende Tabelle gibt Aufschluß über den Ausfall des Versuches.

Meerschweinchenversuch:

Dosis in *cm*³	Subkutan	Intraperit.	Intraven.	Intramusk.
0·03	tot in 48 St.	tot in 18 St.		
0·02	„ „ 28 „	„ „ 20 „		
0·01	„ „ 24 „	„ „ 28 „	tot in 48 St.	tot in 72 St.
0·0075	„ „ 48 „	Tier munter		
0·005	starke Schwellung, Tier munter	Tier munter	Tier munter	sehr starke Schwellung, Tier munter

6) 5 Meerschweinchen erhalten je 8 Injektionen kleiner Dosen Giftlösung, die keine oder nur geringe Schwellungen hervorrufen. Nach 6 Wochen werden den vorbehandelten Tieren, zugleich mit 5 Kontrolltieren je 0·005 cm^3 einer Normalgiftlösung injiziert. Alle Tiere zeigen starke Infiltrate mit Hämorrhagien, eines der vorbehandelten Tiere stirbt nach 4 Tagen.

Versuche an Kaninchen.

1) Ein großes Kaninchen erhält subkutan 1 cm^3 Normalgiftlösung injiziert. Starke Schwellung an der Injektionsstelle. Tod nach 16 Stunden.

2) Einem mittelgroßen Kaninchen werden von einer Normalgiftlösung 0·5 cm^3, zwei kräftigen Kaninchen werden 0·2, beziehungsweise 0·05 cm^3 subkutan injiziert. Das erste zeigt lokal intensive Schwellungen mit Hämorrhagien und stirbt nach 48 Stunden, das zweite stirbt nach Auftreten ähnlicher Erscheinungen nach 4 Tagen, das dritte weist mäßige Schwellungen auf und bleibt am Leben.

3) Einem Kaninchen (2400 *g*) wird von einer Normalgiftlösung 0·01 cm^3 subkutan injiziert. Es zeigt sich bald an der Injektionsstelle ein starkes Infiltrat, das exulzeriert; nach 13 Tagen geht das Tier ein.

4) Ein kleines, graues Kaninchen erhält von einer Normalgiftlösung 0·01 cm^3 unter die Rückenhaut injiziert. Mäßige Schwellung, die sich in 5 Tagen zurückbildet. Nach 6 Tagen erhält das Tier von derselben Giftlösung 0·03 cm^3, die eine ziemlich starke Schwellung hervorrufen. Auch diese Schwellung geht, ohne zu exulzerieren, zurück. 8 Tage später neuerlich Injektion von 0·1 cm^3 Normalgiftlösung. Keine Schwellung. Nach weiteren 5 Tagen werden 0·4 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung eingespritzt. Keine Reaktion. 6 Tage später 2 cm^3, 4 Tage nachher 5 cm^3 einer 5fachen Normalgiftlösung injiziert, ohne daß irgend welche Erscheinungen auftreten. Endlich noch dreimal in kurzen Zwischenräumen je 30 cm^3 einer 10fachen Normalgiftlösung (30.000fache tödliche Meerschweinchendosis!) injiziert. Die Injektionen sind nur von geringen Schwellungen gefolgt. Das Tier wird entblutet und das Serum aufbewahrt.

5) Verschiedene Dosen einer Normalgiftlösung werden einer Anzahl Kaninchen in die Ohrvene injiziert. Untenstehende Tabelle zeigt die Resultate.

cm^3 N.-Giftlösung	Befund
7	Das Tier fängt nach 1 Stunde plötzlich an unruhig zu werden, es wirft den Kopf in den Nacken und verendet unter Krämpfen und Schreien. Ergüsse in den Pleuralraum, Herz dilatiert.
1	Dieselben Erscheinungen 1 Stunde nach der Injektion. Ähnlicher Sektionsbefund.
0·5	Ähnliche Erscheinungen. Das Tier verendet 1 Stunde 15 Minuten nach der Injektion.
0·2	Das Tier zeigt unmittelbar nach der Injektion große Unruhe. Tod nach 3 Stunden.
0·1	Tod nach 5 Stunden.
0·05	Bis zum Abend anscheinend völlig munter, wird am nächsten Morgen tot aufgefunden (Tod 5 bis 15 Stunden nach der Injektion).

6) Eine Normalgiftlösung wird 1/2 Stunde auf 55° C. erwärmt. Von der wieder abgekühlten Lösung werden einem großen Kaninchen 2 cm^3 in die Ohrvene injiziert. Keine Krankheitserscheinungen.

7) Von einer 10fachen Normalgiftlösung werden absteigende Dosen einer Reihe von Kaninchen in die Ohrvene injiziert.

cm^3 10f. N.-Giftlösung	Befund
0·01	1500 *g* schweres Tier. Tod in 3 Stunden nach Eintritt von Krämpfen.
0·005	1750 *g* schweres Tier. Verendet nach 3¼ Stunden unter Krämpfen. Sektionsbefund: seröse Flüssigkeit und bernsteingelbe Gerinsel in den Brusträumen.
0·002	1250 *g* schweres Tier. Tod über Nacht. Typischer Befund.
0·001	Das Tier ist den ersten Tag munter. Am zweiten Tage nach der Injektion verläßt es den Käfig und kauert vor demselben. Respiration und Puls beschleunigt. Tod nach 48 Stunden.
0·0005	Dieselben Erscheinungen. Tod nach 48 Stunden.
0·0002	Das Tier zeigt keine Krankheitssymptome.

Versuche an Rindern.

1) Junger Stier erhält am 22. Januar 1901 2·5 cm^3 einer Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter injiziert. 11 Uhr vormittags Temperatur 38·5° C., 7 Uhr abends Temperatur 39·3° C. Allgemeinbefinden und Freßlust nicht gestört. An der Injektionsstelle tritt am Abend eine deutliche Schwellung auf.

23. Januar. Tier munter. Die Geschwulst nimmt bis abends 8 Uhr ganz wesentlich zu und erstreckt sich über die ganze Schultergegend. Injektionsstelle sehr schmerzhaft, Temperatur den ganzen Tag um 38° C. 24. Januar Temperatur 38·3° C.; Tier munter, Freßlust nicht gestört.

25. Januar. Temperatur 38·0° C. Die Schwellung reicht über das Ellbogengelenk, geht bis in die Vorderbrust und in den Triel, sie fühlt sich dabei an der Injektionsstelle etwas derber an. Das Tier lahmt nicht.

26. Januar. Die Schwellung nimmt noch zu. Temperatur 38 bis 38·4° C. Rege Freßlust, das Tier trinkt viel.

28. Januar. Geschwulst stationär. Das Tier wird im Freien bewegt.

29. Januar. Temperatur 39·0° C., nachmittags 38·7° C. Tier munter, Geschwulst anscheinend etwas kleiner, an der Injektionsstelle empfindlich.

30. Januar. Temperatur 38·3° C. Tier sehr munter, frißt und säuft normal. Geschwulst unverändert, noch empfindlich.

31. Januar. Die Schwellung geht bedeutend zurück. Temperatur 38·4° C., Tier munter. 1. Februar. Weiterer Fortschritt in der Rückbildung der Schwellung. Temperatur 38·3° C. Puls 72. 2. Februar. Temperatur 38° C., Puls 60. Schwellung bis auf einen Wulst an der Injektionsstelle geschwunden.

Am 13. Februar werden dem Rinde hinter der linken Schulter neuerlich 2·5 cm^3 Normalgiftlösung injiziert. Temperatur 11 Uhr vormittags 38·5° C., 2 Uhr 38·6° C., 4 Uhr 39·0° C., 8 Uhr 39·2° C., 10 Uhr 39·4° C. Am 14. Februar

Temperatur 7 Uhr früh 37·9° C., 10 Uhr 38·5° C. Keine Schwellung, Injektionsstelle nur leicht druckempfindlich (siehe auch später).

2) Junger, schwarzer Stier erhält am 1. Februar 1901 1·5 cm^3 einer Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter injiziert. Temperatur 10 Uhr 37·9° C., 12 Uhr 37·9° C., 2 Uhr 38° C., 4 Uhr 39·7° C., 6 Uhr 39° C., 8 Uhr 39·5° C., 10 Uhr 39·2° C. An der Injektionsstelle entwickelt sich eine strangförmige Geschwulst.

2. Februar. Temperatur früh 38·2° C., 9 Uhr 38·7° C. Schwellung diffuser, wenig intensiv, nur nach unten und hinten etwas stärker. Tier munter, Freßlust unvermindert.

3. Februar. Die Schwellung breitet sich bis zur Ellbogengegend aus, Temperatur 38·3° C., Puls 52. Freßlust vermindert, Wiederkauen nicht gestört.

4. Februar. Die Schwellung breitet sich gegen die Schulter aus, Temperatur 39·3° C., Puls 98.

5. Februar. Temperatur vormittags 39·2° C., nachmittags 38·4° C., die Geschwulst breitet sich weiter aus.

6. Februar. Nachmittags Temperatur 39·2⁹ C., Puls 60. Die Schwellung ist auch im Triel nachweisbar.

14. Februar. Die Schwellung vollständig geschwunden, nur die Haut ist an der Injektionsstelle verdickt und schwer verschiebbar.

18. Februar werden 5 cm^3 derselben Giftlösung hinter der linken Schulter injiziert. Temperatur 38·5 bis 39·2° C., leichte Schwellung.

19. Februar. Temperatur 38·4 bis 39·2° C. Schwellung etwa Handteller groß, auf die Gegend der Injektionsstelle beschränkt. 20. Februar Infiltrat sehr derb. Schulter, Ellbogen und Triel frei. 22. Februar. Schwellung geht zurück, Tier munter. 25. Februar. Schwellung nur mehr gering, härter als die Umgebung.

1. März. An der Injektionsstelle ist noch deutlich ein derber Knoten zu fühlen. Injektion von 20 cm^3 derselben Giftlösung (unvermindert wirksam) in der linken Hungergrube. 2. März Temperatur 38·9° C. An der Injektionsstelle eine mäßig ausgedehnte zirkumskripte Schwellung. Tier munter, Freßlust unvermindert. 3. März. Das Tier zeigt herabgesetzte Freßlust, Schwellung hat nicht zugenommen, Temperatur 40·2° C. 4. März. Temperatur 39·2° C., Schwellung verflacht sich, Tier ganz munter.

11. März. Injektion von 40 cm^3 derselben Giftlösung in der rechten Hungergrube. Schwache örtliche Reaktion, Allgemeinbefinden in keiner Weise gestört. Freßlust ungeschmälert erhalten.

19. März. Injektion von 100 cm^3 derselben Giftlösung (zirka $^1/_2$ Normal) hinter der linken und rechten Schulter.

22. März. Geringfügige, ziemlich pralle Schwellungen an beiden Injektionsstellen, Temperatur 38·5° C., Allgemeinbefinden nicht gestört.

16. April. Injektion von 300 cm^3 einer anderen (zirka $^1/_2$ Normal-) Giftlösung. Geringe örtliche Reaktion, leichte Temperatursteigerung, Allgemeinbefinden nicht alteriert.

2. Juni. Injektion von 900 cm^3 einer etwa $^1/_2$ Normalgiftlösung in das subkutane Zellgewebe des Halses. Starke Schwellung, die sich erst nach Monaten bis auf einen derben Knoten zurückbildet. Das Rind wird

hierauf weiter bis Mai 1903 wiederholt in Intervallen von mehreren Wochen bis Monaten mit 300 bis 500 *cm*³ stark wirksamer Giftlösungen behandelt und liefert bei wiederholten Aderlässen ein wertvolles antitoxisches Serum (siehe auch später).

3) 2. März 1901. Junger Stier erhält 11 *cm*³ einer Normalgiftlösung hinter der linken Schulter injiziert, Temperatur abends 11 Uhr 40·2° C., Tier munter, frißt. 3. März. Temperatur 7 Uhr 38·3° C., 10 Uhr 38·4° C., 2 Uhr 38·2° C., 10 Uhr 40° C. Sehr starke Schwellung an der Injektionsstelle, die sich bis zum Ellbogen erstreckt. Nachmittags 5 Uhr kollabiert das Tier plötzlich unter starkem Schweißausbruch, verweigert das Futter und kann nicht zum Aufstehen gebracht werden. 4. März. Die Schwellung nimmt enorm zu, im Allgemeinbefinden ist keine Besserung eingetreten, das Tier stöhnt und nimmt Seitenlage ein. 6. März verendet das Rind. Die Sektion ergab ausgedehntes Ödem an der Injektionsstelle mit gelben, sulzigen Massen, daneben Hämorrhagien in der Muskulatur und Gasansammlung in den veränderten Partien der Muskulatur und des Unterhautzellgewebes. Die mikroskopische Untersuchung ergab das Vorhandensein zahlreicher Stäbchen, die sich in der Kultur als Rauschbrandbazillen erwiesen. Der vorliegende Fall ist als Kombination von Toxinwirkung und Impfrauschbrand aufzufassen, dadurch herbeigeführt, daß infolge mangelhafter Filtration — das Verfahren war noch nicht ausreichend durchgearbeitet — noch entwicklungsfähige Rauschbrandsporen in der Giftlösung sich fanden.

4) Junger Stier. Am 6. März 1901 1·7 *cm*³ einer etwa $^1/_2$ Normalgiftlösung hinter der linken Schulter injiziert. Minimale Schwellung an der Impfstelle. Keine Störung der Freßlust und des Allgemeinbefindens. 11. März. 10 *cm*³ derselben Giftlösung hinter der rechten Schulter eingespritzt. Das Rind zeigt Temperatursteigerungen bis zu 40·5° C. und gestörte Freßlust. An der Injektionsstelle entwickelt sich eine ziemlich beträchtliche Schwellung, die aber nach 2 Tagen stationär wird und deutlich umschrieben ist.

19. März sind alle Erscheinungen verschwunden. Injektion von 50 *cm*³ derselben Giftlösung in der linken Hungergrube. Geringgradige örtliche Schwellung. Allgemeinbefinden nicht gestört.

15. April Injektion von 140 *cm*³ einer $^1/_2$ Normalgiftlösung. Keine Reaktion. (Siehe auch später.)

5) Junger, mausgrauer Stier. Am 8. März 1901 2·5 *cm*³ $^1/_2$ Normalgiftlösung injiziert. Keine Reaktion, leichte Schwellung an der Impfstelle. 11. März 10 *cm*³ derselben Giftlösung hinter der rechten Schulter injiziert. Örtliche, schlaffe Schwellung, die sich bis zum Ellbogen erstreckt. Allgemeinbefinden und Freßlust normal. 15. März. Die Schwellung erstreckt sich bis in den Triel.

19. März. Injektion von 50 *cm*³ derselben Giftlösung in der rechten Hungergrube. Mäßiges Fieber (39·9°). Die Schwellung greift auch auf das Bein über. 18. April Injektion von 140 *cm*³ $^1/_2$ Normalgiftlösung. Keine örtliche und allgemeine Reaktion. (Siehe auch später.)

6) Zwei Jungstiere erhalten am 18. April 1901 hinter der linken Schulter je 5 *cm*³ einer $^1/_3$ Normalgiftlösung injiziert. Es treten nur geringfügige Schwellungen auf, Allgemeinbefinden nicht gestört. Freßlust unvermindert. Am 29. April werden beiden Rindern von derselben Giftlösung je 42 *cm*³

hinter der rechten Schulter injiziert. Auftreten von mächtigen Schwellungen, die sich bis in die Unterbrust, die Vorderbrust und den Triel erstrecken. Freßlust kaum vermindert, Allgemeinbefinden nicht gestört, nur das Aufstehen der Tiere erschwert. Nach 9 Tagen sind die Schwellungen gänzlich zurückgegangen. Befinden normal.

7) Zwei Jungrinder (langhaarig, bosnische Rasse) erhalten am 17. November 1901 je 5 *cm*³ einer ½ Normalgiftlösung, die eine Stunde auf 60° C. erwärmt wurde, hinter der linken Schulter injiziert. Keine Reaktion. Am 26. November Injektion von 12 *cm*³ derselben erwärmten Lösung. Ebenfalls völlig reaktionsloser Verlauf. Am 2. Dezember werden 20 *cm*³ hiervon injiziert, die gleichfalls reaktionslos vertragen werden. (Siehe auch später.)

8) Ein Jungrind (langhaarig, bosnische Rasse) wird mit der gleichen Giftlösung (Vers. 7), die nicht erwärmt wurde, an den gleichen Terminen behandelt. Nach der ersten Injektion Auftreten einer starken Schwellung, auch nach der zweiten Injektion noch leichte örtliche Reaktion. Allgemeinbefinden nicht alteriert. (Siehe auch später.)

9) 3 Jungrinder werden am 26. März 1902 mit 4, beziehungsweise 6 und 8 *cm*³ einer durch 4 Monate gelagerten Giftlösung, die ihre Wirksamkeit fast völlig eingebüßt hat, behandelt. Minimale örtliche Reaktion, Allgemeinbefinden unverändert. Am 5. April werden Dosen von 12, beziehungsweise 16 und 20 *cm*³ hinter der rechten Schulter injiziert, ohne Reaktionen hervorzurufen. (Siehe auch später.)

10) 3 Jungrindern werden am 26. März 1902 4, beziehungsweise 6 und 8 *cm*³ einer zirka ⅕ Normalgiftlösung hinter der linken Schulter injiziert. Das mit 6 *cm*³ behandelte Rind zeigt eine beträchtliche Schwellung an der Injektionsstelle, die sich bis in die Unterbrust erstreckt und erst nach 6 Tagen zurückgeht. Die zwei anderen Jungrinder weisen nur geringfügige Schwellungen auf. Das Allgemeinbefinden ist bei allen drei Tieren nicht im geringsten gestört. Am 5. April werden 12, 16 und 20 *cm*³ hinter der rechten Schulter injiziert. Das mit 16 *cm*³ behandelte Jungrind, das, wie oben erwähnt, nach der ersten Injektion eine starke Schwellung aufwies, reagierte in keiner Weise. Hingegen zeigten die zwei anderen Tiere schon nach 24 Stunden eine starke Schwellung an der Injektionsstelle, die in kürzester Zeit zunahm und sich nach 48 Stunden in die Unterbrust und den Triel erstreckte. Auch das Allgemeinbefinden der beiden Rinder war empfindlich gestört, die Freßlust vollständig aufgehoben, es stellte sich Fieber bis zu 40·4° C. ein. Am 8. April verendete das mit 12 *cm*³ behandelte Jungrind, während beim zweiten Tiere sich ein chronischer Prozeß einstellte, der mit schweren Schwellungen und mit von Remissionen begleiteten Störungen des Allgemeinbefindens einherging. Das Tier mußte am 30. April getötet werden. Die Sektion des am 8. April (siehe oben) verendeten Jungrindes ergab das Vorhandensein eines Impfrauschbrandes. Durch Kultur und Tierversuch wurde die Gegenwart von Rauschbrandbazillen festgestellt.

Es war somit zweifellos erwiesen, daß die Giftlösung, bei deren Filtration aus äußeren Gründen nicht die nötige Sorgfalt beobachtet worden war, noch Sporen enthielt. Es geht auch aus diesen Versuchen hervor, wie peinlich genau darauf gesehen werden muß, daß wirklich nur g a n z sporenfreie Giftlösungen verwendet werden. (Siehe auch später.)

11) 15. Januar 1903. Injektion bei zwei Jungrindern (I und II) von 10, beziehungsweise 20 *cm*³ einer 2fachen Normalgiftlösung hinter der linken Schulter. Am Abend steigt bei beiden Tieren die Temperatur auf 40° C., es bilden sich Schwellungen im Bereiche der Injektionsstellen, die rapide zunehmen und sehr schmerzhaft sind. Rind II verweigert auch das Futter und zittert am ganzen Körper. Am 16. Januar haben die Schwellungen bei beiden Rindern zugenommen, Rind I zeigt eine Besserung des Allgemeinbefindens, Rind II weist eine wesentliche Verschlechterung auf und verendet am Nachmittag unter den Erscheinungen einer akut beginnenden Herzschwäche. Die Sektion ergab das typische Bild der Rauschbrandgiftwirkung. Das im k. u. k. Tierarzneiinstitute aufgenommene Sektionsprotokoll lautete folgendermaßen:

Sektions-Protokoll

aufgenommen am 17. Januar 1903 im pathologischen Sektionssaale des k. u. k. Militär-Tierarzneiinstitutes und der Tierärztlichen Hochschule in Wien.

Impfrind Nr. VI.

Impfstelle hinter der linken Schulter.

Von der Impfstelle ausgehend ist das Unterhautbindegewebe und das Bindegewebe der Muskulatur, hinaufreichend über den Unterteil des Halses, nach rückwärts bis zum Rippenbogen und nach unten ziemlich scharf begrenzt, gegen die Mitte des Brustbeines stark gelbsulzig infiltriert und von umschriebenen kleinen Blutungen durchsetzt. Gasblasenbildung nicht wahrnehmbar, das Ödem geruchlos. Das Unterhautbindegewebe der übrigen Körperpartien, sowie die sichtbaren Schleimhäute bläulich verfärbt. Die beiden Lungen durch ältere Adhäsionen mit dem Zwerchfelle und den beiden Brustfellüberzügen verbunden, das Gewebe dieser Adhäsionen beiderseits gelbsulzig infiltriert, beide Lungen hochgradig ödematös durchtränkt. Im Herzbeutel eine bedeutende Menge bernsteingelber, leicht getrübter Flüssigkeit. An der Innenfläche des Herzbeutels, sowie am Herzüberzuge verstreut, einige rotgefärbte, leicht abziehbare Auflagerungen. Unter dem Epikard des rechten Herzens einige kleine Blutungen. Die Klappen sind zart. Unter dem Endokard des linken Herzens ziemlich ausgebreitete Blutungen, teilweise mit frischen Gerinnungen über denselben.

Die Leber ziemlich blutreich, auf der Schnittfläche glänzend, Zeichnung gut hervortretend.

Milz und Niere ohne Veränderungen.

Die Mägen mit normalen Futterstoffen gefüllt, Schleimhaut unverändert.

Im Dünndarm ziemlich schleimiger Inhalt, Schleimhaut injiziert und etwas geschwellt.

Von der Muskulatur der Impfstelle werden aseptisch kleine Stückchen entnommen und in Zuckerbouillon anaërob kultiviert. Nach 3 Tagen Aufenthaltes im Brutschrank werden die Proben untersucht und steril befunden. Ein anderes Stückchen wird einem Meerschweinchen unter die Haut gebracht. Das Tier zeigt nach 24 Stunden eine nicht unbeträchtliche Schwellung, bleibt jedoch am Leben. Einem zweiten Meerschweinchen wird 1 *cm*³ des durch Auspressen der sulzigen Gewebe gewonnenen Saftes subkutan injiziert. Nach 4 Tagen geht das Meerschweinchen ein. Mikroskopisch und kulturell erweist sich die Ödemflüssigkeit dieses Meerschweinchens steril. Sie ruft auch, einem zweiten Meerschweinchen injiziert, bei diesem keinerlei Schwellungen hervor.

Rind I erholt sich zusehends, auch die Schwellung nimmt ab.

30. Januar neuerliche Injektion von 10 cm³ Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter. Leichte örtliche Reaktion. Allgemeinbefinden nicht gestört. Kein Fieber. 11. Februar Injektion von 20 *cm*³ $^1/_2$ Normalgiftlösung in der linken Hungergrube. Örtlich begrenzte Schwellung, die nach einigen Tagen zur Abszedierung führt. Nach erfolgter Inzision entleert sich eine reichliche Menge eines übelriechenden Eiters, der mikroskopisch Stäbchen und Kokken enthält (Sekundärinfektion). Das Befinden des Jungstieres ist unverändert normal.

25. Februar. Injektion von 40 *cm*³ einer 2fachen Normalgiftlösung in der rechten Hungergrube. Sehr geringe, örtliche Schwellung, Allgemeinbefinden und Freßlust nicht gestört. (Siehe auch später.)

12) 4 Jungrinder (I, II, III, IV). Injektion am 19. Januar 1903 von je 3 *cm*³ einer 2fachen Normalgiftlösung hinter der linken Schulter. Sämtliche Rinder zeigten sehr starke Schwellungen und waren in ihrem Allgemeinbefinden durch 2 Tage wesentlich alteriert.[1]) Am 20. und 21. Januar fieberten alle Tiere stark (meist über 40° C. Temperatur). Die Freßlust war sehr stark herabgesetzt, der Puls beschleunigt. 22. Januar Besserung des Allgemeinbefindens, hingegen nehmen die Schwellungen an Umfang zu und erstrecken sich bald auch in die weitere Umgebung der Impfstelle. Sie reichen bei allen Rindern bis an das Knie des Vorderbeines und in den Triel, so daß die unförmlich aussehenden Tiere in ihren Bewegungen stark gehemmt und nur schwer zum Aufstehen zu bringen sind. Die Schwellungen gehen zurück.

31. Januar. Injektion von 10 *cm*³ Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter. Keine nennenswerten Reaktionserscheinungen, auch die lokalen Schwellungen nur handtellergroß und gut abgegrenzt.

11. Februar. Injektion von 20 *cm*³ $^1/_2$ Normalgiftlösung, 20. Februar Injektion von 40 *cm*³ einer 2fachen Normalgiftlösung, ohne daß besondere Reaktionen im Gefolge auftreten. Keine Temperatursteigerung. Freßlust unvermindert. Geringfügige Schwellungen. (Siehe auch später)

13) 28. Januar 1903. 3 Jungrindern (I, II, III) werden je 3 *cm*³ einer Normalgiftlösung injiziert. 30. Januar. Ein Rind zeigt eine ausgebreitete Schwellung, die auch in den nächsten Tagen beträchtlich zunimmt und das

[1]) Jungrind IV erhielt am 20. Januar eine Injektion von 30 *cm*³ 400faches Rauschbrandserum (siehe später). Eine auffallende Änderung des Allgemeinbefindens als Folge dieses Eingriffes war nicht zu erkennen.

Tier stark behindert. Rind II zeigt eine wesentlich kleinere, sehr empfindliche Geschwulst, Rind III hingegen ein nur mäßig großes Infiltrat. Rind I hat überdies Fieber und herabgesetzte Freßlust.

7. Februar. Schwellung bei I noch nicht völlig geschwunden. Injektion von je 10 cm^3 einer Normalgiftlösung. Rind I zeigt abermals eine nicht unerhebliche Schwellung, doch sind Allgemeinbefinden und Freßlust besser, als dies nach der 1. Injektion der Fall war. Rind II und III haben nur sehr wenig, und zwar mit ganz geringen Schwellungen auf die Injektion reagiert.

14. Februar. Injektion von 20 cm^3 einer $^1/_4$ Normalgiftlösung; 25. Februar Injektion von 40 cm^3 derselben Lösung. Keine allgemeinen oder örtlichen Reaktionserscheinungen (siehe auch später).

14) 10. Februar. Einer Kuh werden an 4 verschiedenen Körperstellen (Schweif, Hals, Rückenhaut, rechte Schulter) je 3 cm^3 einer $^1/_3$ Normalgiftlösung subkutan injiziert.

Allgemeinbefinden in der Folge nur wenig gestört. Überall treten Schwellungen auf, am stärksten am Halse, am schwächsten am Rücken. Die Schwellungen sind in einer Woche wieder geschwunden.

Versuche an Schafen.

1) Ein zirka 2jähriges Merinoschaf erhält 2 cm^3 einer Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter injiziert. Nach 24 Stunden starke Schwellung, die sich bis in die Vorderbrust und gegen den Hals zu erstreckt. Allgemeinbefinden noch nicht gestört. Nach 48 Stunden kollabiert das Tier plötzlich und verendet. Das Sektionsprotokoll des k. u. k. Tierarzneiinstitutes lautete:

Sektionsbefund

über ein Schaf, klin. Nr. 2090, welches am 26. Juni 1903 umgestanden ist.

Die Haut an der rechten Schulter, am Triel und teilweise an der Unterbrust vorgewölbt, die entsprechenden Partien teigig anzufühlen; an der Impfstelle über der rechten Schulter, in der Haut einige braune, streifenförmige, trockene Stellen. Die sichtbaren Schleimhäute etwas bläulich, Hinterleib stark aufgetrieben, Totenstarre schlecht entwickelt, das Unterhautbindegewebe und Zwischenmuskelgewebe über der rechten Schulter nach unten bis zur Mittellinie, nach vorne bis über das untere Halsdrittel, nach hinten auf der rechten Seite bis in die Linie des *Processus xypkoideus* reichend, gelbsulzig infiltriert und eine große Menge bernsteingelber, klarer Flüssigkeit entleerend. Das Ödem geruchlos, ohne Gasentwicklung. Die Muskulatur daselbst bleich und ödematös durchtränkt; in beiden Brustfellsäcken eine ziemlich große Menge einer weingelben, klaren Flüssigkeit angesammelt, die Auskleidung glatt, glänzend und bleich. Die Lungen leicht ödematös, in

der Trachea und in den Bronchien reichlich weißgelber Schaum angesammelt. Schleimhaut mäßig injiziert. Im linken Herzen zahlreiche, subendokardiale Blutungen; die Klappen zart.

2) Ein Schaf, 3- bis 4jährig, erhält 0·2 cm³ einer 10fachen Normalgiftlösung in der Blöße unter der rechten Schulter injiziert.

Tags darauf sehr starke Schwellung, Blutungen unter und in der Haut an der Injektionsstelle. Tier verhältnismäßig munter, frißt und wiederkaut. 4 Tage nachher Injektion von 3 cm³ derselben Lösung in der Blöße unter der linken Schulter. Es entsteht eine sich rasch ausbreitende Schwellung, das Tier kollabiert und verendet 18 Stunden nach der Injektion.

3) Ein Schaf, 3jährig, erhält 0·5 cm³ einer 10fachen Normalgiftlösung in der Blöße unter der rechten Schulter injiziert. Nach 24 Stunden starke Schwellung mit Hämorrhagien. Das Tier liegt und verändert nur ungern seine Stellung. 48 Stunden nach der Injektion verendet es unter Erscheinungen von Herzschwäche und Dyspnoe.

4) 3 Schafen (1- bis 2jährig) werden 1, beziehungsweise 0·5 und 0·2 cm³ einer 10fachen Normalgiftlösung in der Blöße unter der rechten Schulter injiziert. Schaf I (1 cm³) verendet unter typischen Erscheinungen nach 2 Tagen, Schaf III (0·2 cm³) nach 3 Tagen. Schaf II ist ebenfalls frühzeitig schon schwer krank, verendet aber erst 5 Tage nach der Injektion. Sektionsbefund typisch.

Versuche an anderen Warmblütern.

1) Ein Affe (Kronenaffe) erhält 0·4 cm³ einer Normalgiftlösung in der rechten Brustseite subkutan injiziert. Nach 20 Stunden ist das Tier schwer erkrankt, kauert am Boden des Käfigs und stöhnt. Unter Schreien verendet es 21 Stunden nach der Injektion. Die Sektion ergibt das Vorhandensein eines ausgebreiteten hämorrhagisch-sulzigen Ödems an der Impfstelle und in deren Umgebung.

2) Ein Hund (4500 g) erhält 0·4 cm³ einer 1/2 Normalgiftlösung injiziert. Starke Schwellung, die aber zurückgeht. Nach 8 Tagen Injektion von 3 cm³ Normalgiftlösung. 6 Stunden nach der Injektion ist das Tier traurig, frißt nicht, an der Impfstelle tritt eine starke Schwellung auf. Am anderen Tage wird das Tier verendet aufgefunden.

3) Ein Igel (720 g) erhält 0·2 cm³ einer 1/2 Normalgiftlösung unter die Rückenhaut injiziert. Tod nach 48 Stunden. Intensives, hämorrhagisches Ödem an der Impfstelle.

4) Ein Huhn (580 g) erhält 0·04 cm³ einer 1/2 Normalgiftlösung unter die Brusthaut injiziert. Tod nach 48 Stunden. Zenkersche Degeneration der Muskulatur, sulziges Infiltrat im Unterhautzellgewebe.

5) Eine Taube erhält 0·02 cm³ einer 1/2 Normalgiftlösung in den Brustmuskel injiziert. Es bildet sich in 24 Stunden ein ausgebreitetes Infiltrat. Das Tier steckt den Kopf zwischen die Flügel und nimmt kein Futter. Nach 5 Tagen ist das Tier genesen. 3 Monate später wurden demselben Tier und gleichzeitig einer nicht vorbehandelten Taube je 0·02 cm³ einer 10fachen Normalgiftlösung subkutan injiziert. Beide Vögel verenden nach 16 Stunden.

6) 2 weißen Mäusen werden subkutan an der Schwanzwurzel 0·001 (I) und 0·01 cm^3 (II) einer 1/4 Normalgiftlösung injiziert. Maus I verendet nach 6 Tagen, Maus II nach 24 Stunden. Gewöhnlicher Befund.

Überblickt man die an Rindern, Schafen, Kaninchen und Meerschweinchen angestellten Versuche, so ergibt sich, daß diese Tierspezies eine wenig verschiedene Empfindlichkeit gegenüber dem Rauschbrandgift aufweisen (die tödliche Minimalmenge pro Kilogramm Körpergewicht berechnet).

Es beträgt die tödliche Dosis:

Für ein erwachsenes Jungrind (300 *kg*) zirka 40 cm^3, für ein erwachsenes Schaf (30 *kg*) etwa 2 cm^3, für ein erwachsenes Kaninchen (2 *kg*) 0·01 bis 0·2 cm^3 und für ein Meerschweinchen (250 *g*) 0·01 cm^3 Normalgiftlösung.

B. Die Eigenschaften des antitoxischen Serums und der Serum-Toxingemische.

a) Gewinnung des antitoxischen Serums.

Wir haben im vorstehenden Abschnitt mitgeteilt, daß Rinder und Kaninchen durch wiederholte Toxininjektionen giftfest gemacht werden können, während bei Meerschweinchen die Immunisierung nicht gelingt. Diese zeigen im Gegenteil eine gewisse Überempfindlichkeit nach dem ein- oder mehrmaligen Überstehen einer Gifterkrankung. Es wurde auch darauf hingewiesen, daß die Grundimmunität beim Rinde sehr rasch eintritt, und dann fast beliebige Mengen Giftes einverleibt werden können, ohne daß eine nennenswerte Reaktion darauf folgt.

Die Giftfestigung im Körper der Rinder und Kaninchen geht nun mit der Bildung von Schutzstoffen einher, die im Blute gelöst sind und in erster Linie den Charakter der Antitoxine aufweisen. Diese antitoxischen Eigenschaften gewinnt das Blut der vorbehandelten Tiere frühzeitig und gleichzeitig mit dem Entstehen der aktiven Immunität. Hierbei geht die Intensität beider Erscheinungen im allgemeinen nicht parallel, wenigstens waren zwischen den zwei Tierspezies, die wir untersuchten, in dem Sinne Unterschiede vorhanden, daß beim Kaninchen trotz absoluter Giftimmunität (die 30.000fache Menge der für Meerschweinchen tödlichen Minimaldosis wurde anstandslos vertragen) das Blutserum nur

eine mäßige Wertigkeit aufwies, die durch weiter fortgesetzte Behandlung auch nicht gesteigert werden konnte, während Rinder, die wiederholt mit Toxinlösungen behandelt wurden, ziemlich parallel mit dem Auftreten der aktiven Immunität schon frühzeitig ein relativ hochwertiges Serum liefern. Wir wollen jedoch wegen der nicht sehr ausgedehnten Erfahrungen über die einschlägigen Verhältnisse beim Kaninchen nicht behaupten, daß die angeführte Beobachtung in der Tat verallgemeinert werden darf. Es gelang übrigens auch beim Rinde die Anhäufung der Antitoxine im Blute durchaus nicht in beliebigem Umfange, sondern die Wertigkeit des Serums blieb im einzelnen Falle — ganz in Übereinstimmung mit den Erfahrungen, die man bisher bei anderen Bakteriengiften über die Gewinnung antitoxischer Sera gemacht hat — nachdem eine gewisse Höhe der Schutzkraft erreicht war, stationär.

Die Art und Weise, wie bei der Serumgewinnung am besten vorgegangen wird, ergibt sich zur Genüge aus dem bereits Gesagten. Da schon (s. Protokolle) nach der Injektion von 60 bis 70 *cm*³ Normalgiftlösung das Blutserum in mehreren untersuchten Fällen eine nicht unerhebliche Schutzkraft aufwies (0·05 *cm*³ neutralisierten 1 *cm*³ einer 2fachen Normalgiftlösung), und bei der Immunisierung mit den Dosen, wie bemerkt, ziemlich brüsk in die Höhe gegangen werden darf, ohne daß eine Beeinträchtigung des Erfolges gefürchtet werden muß, wird im allgemeinen eine 4- bis 5monatliche Behandlung des injizierten (Jung-) Rindes zur Gewinnung eines wirksamen Blutserums ausreichen.

Wir waren imstande, auf diese Weise ein 400faches Normalserum (0·0025 *cm*³ neutralisieren 1 *cm*³ Normalgiftlösung) zu gewinnen. Höchst wahrscheinlich ist bei reicherem Material von Rindern eine noch höhere Wertigkeit des Serums zu erzielen.

Der Aderlaß wurde durch Anschlagen oder Einschneiden der Vena jugularis ext. am Halse vorgenommen. 4 bis 5 *l* Blut, die zirka 1·5 *l* Serum liefern, konnten bei einer Operation ohne Gefahr für das Wohlbefinden des Rindes abgelassen werden.

b) Giftbindende Eigenschaften des Serums.

Die Fähigkeit des so gewonnenen Serums, das Rauschbrandgift zu neutralisieren, äußert sich nun vor allem darin, daß es — in passendem Verhältnis in vitro mit Giftlösungen gemischt — diese ihrer giftigen Eigenschaften beraubt. Weiters läßt sich nachweisen, daß rechtzeitig vorgenommene präventive Injektionen entsprechender Mengen von Rauschbrandserum die Versuchstiere gegen nachträglich injizierte Giftlösung schützen. Auch bei gleichzeitiger Einverleibung von Giftlösung und Serum, wenn diese an verschiedenen Körperstellen injiziert werden, zeigt sich ein unverkennbarer Einfluß des Serums auf die Intensität und den Ablauf der Krankheitserscheinungen.

Wir haben zu den meisten Experimenten aus Bequemlichkeitsrücksichten Meerschweinchen benutzt und nur vereinzelte Experimente an anderen Tierspezies angestellt. Überbürdung mit Berufsgeschäften, Mangel an einer genügenden Zahl von Meerschweinchen und sonstige äußere Umstände hinderten uns aber bisher — wie wir schon in der Einleitung hervorhoben — die Verhältnisse der Gift-Serumbindung derart eingehend zu studieren, daß wir etwa eine ausführliche Charakteristik der Rauschbrandgiftlösungen, und im Anschlusse daran eine vergleichende Besprechung in Hinblick auf Ähnlichkeiten und Unterschiede gegenüber anderen genauer studierten Bakteriengiften jetzt schon geben könnten. Immerhin sind wir bereits heute über die wichtigsten Verhältnisse, die bei der gegenseitigen Bindung von Rauschbrandgift und Rauschbrandantitoxin in Betracht kommen, so weit orientiert, daß wir, als sicherstehend, folgende Tatsachen anführen können.

Versetzt man ein bestimmtes Multiplum der tödlichen Minimalmenge einer Giftlösung (z. B. 1 cm^3 = 100, beziehungsweise 1000 tödliche Dosen) mit verschiedenen Quantitäten Serums und injiziert man die Mischung Meerschweinchen subkutan,[1]) so tritt einmal bei nicht ausreichenden Mengen von Serum der Tod der Tiere ein, anscheinend in derselben Weise wie nach Injektion von Giftlösungen allein.

[1]) Die Gemische wurden stets unmittelbar nach ihrer Herstellung injiziert.

Steigert man die Serummenge, so gelangt man zu einem Punkt, wo die Versuchstiere zwar noch intensive Schwellungen und allgemeine Krankheitserscheinungen aufweisen, aber mit dem Leben davonkommen. Bei Verwendung noch größerer Serummengen wird schließlich eine Grenze erreicht, bei welcher die Neutralisation der Mischung in dem Sinne vollzogen ist, daß die Injektion weder Schwellungen noch Hämorrhagien hervorruft oder von ganz minimalen, rasch verschwindenden Schwellungen gefolgt ist. Betrachtet man eine solche Versuchsreihe näher (s. Protokolle), so erregt es vor allem unsere Aufmerksamkeit, daß die Zone zwischen der Serummenge, die zur Neutralisation der tödlichen Wirkung des Gemenges nötig ist, und jener Menge, die imstande ist, auch jede „Schwellung machende" Wirkung zu paralysieren, von erheblicher Breite ist. Die Differenz zwischen beiden Werten beträgt in den angeführten Versuchsreihen das Vielfache der zur „glatten" Neutralisation der tödlichen Minimaldosis nötigen Serummenge.

Von gleichem Interesse ist folgende Beobachtung:

Fügte man zu je 1 cm^3 eines Gemisches, das freies Antitoxin im Überschuß enthielt, allmählich steigende Dosen wirksamer Giftlösung hinzu (s. Protokolle), so trat die tödliche Wirkung erst bei einer Menge zugefügter Giftlösung hervor, die man als ein Multiplum der tödlichen Dosis ansehen mußte.

Zweifellos spielen bei diesen Erscheinungen, die so regelmäßig zur Beobachtung kommen, gesetzmäßig ablaufende Vorgänge eine Rolle. Schwieriger zu deuten sind dann weiterhin andere, gelegentlich zu beobachtende Erscheinungen, die den Stempel des „abnormen" tragen. Unter Umständen ruft nämlich ein Gemisch, das Serum in beträchtlichem Überschuß enthält, bei kleinen Meerschweinchen (Tiere mit dünner Haut) Schwellungen hervor, die von demarkierender Entzündung und Nekrose der Haut gefolgt sind. In einem Versuche, der unter allen Kautelen angestellt war, führte ein solches, „stark überneutralisiertes" Gemisch nach wenigen Tagen sogar den Tod des Tieres herbei.

In derartigen Versuchen handelte es sich regelmäßig um Gemische, die neben überschüssigem Serum Multipla der tödlichen Minimaldosis (50- bis 200fache) enthielten. Niemals

konnte eine abnorme Reaktion bei Injektion überneutralisierter Gemische, die die einfach oder nur mehrfach tödliche Menge enthielten, beobachtet werden.[1])

Die früher angeführte Beobachtung, daß die Injektion der überneutralisierten Multipla keineswegs regelmäßig Krankheitserscheinungen hervorruft, legt es nahe, daß bei dem Vorgang individuelle Zustände der Versuchstiere eine Rolle spielen.

Von besonderem Interesse schien es nun, festzustellen, ob zwischen der Giftigkeit der Rauschbrandgiftlösungen und ihrem Bindungswert gegenüber Serum strenge Beziehungen bestehen.

Unsere Versuche lehren folgendes:

Vergleicht man zwei Giftlösungen, die — an Meerschweinchen geprüft — gleich wirksam zu sein scheinen, hinsichtlich ihres Serumbindungsvermögens, so ergibt sich, daß beide die gleichen Serummengen zur Neutralisation der (tödlichen) Giftwirkung verbrauchen. In ähnlicher Weise bindet eine 2-, 4-, 8mal schwächere Giftlösung nur die Hälfte, ein Viertel, ein Achtel der für die verglichene Lösung verbrauchten Serummenge. Wir glauben nach allem, daß in der Tat bei verschiedenen Rauschbrandgiftlösungen Giftigkeit und Serumbindungsvermögen parallel gehen.[2])

Bekanntlich haben die Verhältnisse der Serumbindung, welche gelagerte Giftlösungen zeigen, seit den Forschungen Ehrlichs weitgehende Aufmerksamkeit gefunden.

Gerade auf diesem Gebiete sind aber unsere Untersuchungen noch nicht abgeschlossen. Wir können immerhin auf einiges, als feststehend, verweisen.

Zunächst konnten wir beobachten, daß Giftlösungen, die durch mehrmonatliches Lagern ihre Giftigkeit gänzlich einbüßten, regelmäßig auch das Bindungsvermögen für Serum verloren. Giftlösungen, deren Titer infolge anhaltenden Schüttelns mit Luft oder infolge Lagerns stark herabgegangen war, zeigten auch regelmäßig eine starke Abnahme des Serumbindungsvermögens.

---

[1]) Selbstverständlich wurde der Faktor der größeren Flüssigkeitsmenge ausgeschaltet, indem durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung stets das gleiche Flüssigkeitsvolum hergestellt wurde.

[2]) Dieses Verhalten scheint uns sehr hervorhebenswert, insbesondere im Hinblick auf die oben beschriebene Erscheinung der breiten Zone zwischen tödlicher und Schwellung machender Wirkung der Gemische.

Wir bemühten uns, in einem größeren Versuch exakt festzustellen, ob die Abnahme von Giftigkeit und Bindungsvermögen ganz parallel gehen. Eine Giftlösung, die im frischen Zustande so wirksam war, daß erst 0·025 cm^3 400 f. N. S. 1 cm^3 derselben (nicht glatt) neutralisierten, wurde kräftig geschüttelt. Dabei nahm die Giftigkeit um das 40fache ab. Es wurde nun je 1 cm^3 geschüttelter Giftlösung mit 0·0225 cm^3 Serum versetzt, und zu diesem Gemische steigende Mengen frischer Giftlösung hinzugesetzt. Die Gemische wurden Meerschweinchen injiziert. Der Versuch ergab, daß in dem genannten Falle das Bindungsvermögen in demselben Maße wie die Giftigkeit abgenommen hatte (s. Protokolle).

Weiters konnten wir folgendes feststellen:

Ein Gemisch von Serum und Giftlösung, in welchem unmittelbar nach der Mischung etwa noch drei Vierteile des Giftes in Freiheit waren (dies ergab der gleichzeitig angestellte Meerschweinchenversuch), wurde ebenso wie eine Probe der Giftlösung ohne Serumzusatz, in der Kälte aufbewahrt. Nach länger dauerndem Lagern (17 Tage) war die Giftwirkung des Gemisches vollständig geschwunden, während die für sich aufbewahrte Giftlösung noch kräftig wirksam war.

Es wird weiter zu erheben sein, ob es sich in diesem Falle um fortschreitende Bindung von Gift beim Lagern handelte, oder ob die Abnahme der Wirksamkeit auf andere, zufällige Ursachen znrückgeführt werden muß.

c) Verhalten des antitoxischen Serums gegenüber äußeren Einflüssen.

Soweit unsere Erfahrungen reichen, ist das antitoxische Serum (Rinderserum) von unbegrenzter Haltbarkeit. Wir besitzen gegenwärtig noch Proben eines vor mehr als 2 Jahren gewonnenen Serums, die nicht im Geringsten an Wirksamkeit verloren haben, wie durch zahlreiche Kontrollversuche mit Normalgiftlösungen festgestellt wurde. Diese große Beständigkeit des antitoxischen Serums ist für die Eichung der Giftlösungen von großem Wert und ermöglicht erst einen genaueren Vergleich derselben untereinander.

Durch Eintrocknen im Vakuum über Schwefelsäure erfolgte in einem Versuche nur eine unbedeutende Abnahme der Wirksamkeit. Wir haben diesen Versuch vorwiegend aus theoretischem Interesse angestellt, da das Wiederauflösen der Serumkrümel wie des gepulverten Rückstandes immerhin zeitraubend ist, und bei der guten Haltbarheit des flüssigen Serums sowie dessen hohem Wirkungswert die Konzentrierung von keiner praktischen Bedeutung ist. Die Konservierung der Proben erfolgte stets durch Aufbewahren derselben in der Kälte, gelegentlich unterstützt durch einen Zusatz von Chloroform, der sich als völlig unschädlich erwies und öfter z. B. für den Transport des Serums von großem Vorteil war.

Auch bei der Dialyse gegen destilliertes Wasser, die wieder in Pergamentschläuchen vorgenommen und über 10 Tage ausgedehnt wurde, vermindert sich der Titer des Serums nicht. Es geht also das Antitoxin ebensowenig wie das Toxin durch die Membran.

Später angeführte Versuche, in denen durch Erwärmen von Serum-Toxingemischen auf 60 bis · 65° C. (durch $^1/_2$ bis 1 Stunde) das Antitoxin neuerlich frei gemacht werden konnte, ergaben auch die Hitzebeständigkeit des Antikörpers im Serum.

d) Wirkungsweise und Verhalten der Serum-Toxingemische.

Wir haben schon erwähnt, daß durch sukzessives Hinzufügen von Serum zu einer Giftlösung erst eine Grenze erreicht wird, wo die tödliche Wirkung derselben aufgehoben ist, und daß bei weiterem Zusatz von Serum schließlich durch das Gemisch auch keine Schwellungen mehr verursacht werden. Es wurde überdies bemerkt, daß namentlich bei jungen Meerschweinchen gelegentlich durch stark überneutralisierte Giftlösungen Krankheitserscheinungen ausgelöst werden. Wenn wir von diesen Ausnahmsfällen absehen, so zeigen unsere Versuchsprotokolle, daß man doch im allgemeinen ganz gut von neutralen Gemischen sprechen kann (wenigstens in bezug auf die Erscheinungen im Meerschweinchenversuche), und daß sich die zur Neutralisierung der Giftwirkung einer bestimmten Menge Giftlösung nötige Quantität Serum, wenn auch die Grenz-

zone etwas verbreitert ist, recht exakt bestimmen läßt. Jedenfalls ergibt sich in Versuchen, in welchen man nur allmählig den Serumzusatz steigert (wobei also das Vorhandensein eines großen Serumüberschusses vermieden wird), daß ganz regelmäßig eine Grenze zwischen der völlig neutralisierenden Dosis und derjenigen, bei deren Gegenwart noch Schwellungen entstehen, zu sehen ist.

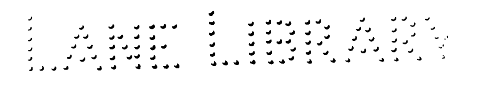
Durch Kontrollversuche an anderen Tiergattungen lassen sich übrigens die Resultate des Meerschweinchenexperimentes leicht verifizieren, da nach allen unseren Erfahrungen Gemische, die sich in Meerschweinchenversuchen als neutral erweisen, auch gegenüber Rind, Schaf und Kaninchen völlig inoffensiv sind.[1])

Die Unschädlichkeit der neutralen Gemische, die sich natürlich auch dann zeigte, wenn die im Gemenge enthaltene Giftlösung der vielfach tödlichen Dosis entsprach, ließ mit besonderem Interesse dem Ablaufe der Reaktion im Körper der Versuchstiere entgegensehen.

Es hat sich nun herausgestellt, daß jene Tierarten, die durch Injektionen der Rauschbrandgiftlösung giftfest gemacht werden konnten (Rind, Kaninchen), außerdem Schafe durch Einverleibung von Serum-Toxingemischen (neutraler Gemische und solcher, die einen geringfügigen Serumüberschuß aufweisen) aktiv immunisiert werden, während Meerschweinchen, die durch Toxininjektionen keinen Schutz vor dem Rauschbrandgift erlangen, durch derartige Serum-Toxingemische nicht geschützt werden können. Die Gesetzmäßigkeit dieses Verhaltens wurde in zahlreichen Versuchen festgestellt.

Die genaueren Verhältnisse bei der auf diesem Wege von Rindern und Schafen erworbenen Immunität konnten wir, ebenso wie die feineren Einzelheiten des Vorganges bisher nicht erheben. Wir können aber heute schon sagen, daß der Giftschutz, den derart vorbehandelte Tiere erwerben, mindestens mehrere Monate anhält und, soweit Parallelversuche den Vergleich ermöglichen (an Rindern wurden solche Versuche ausgeführt), dem-

[1]) Beim Kaninchen kamen gelegentlich Abweichungen in dem Sinne zur Beobachtung, daß Gemische, die auf Grund der Erprobung an Meerschweinchen noch freies, tödliches Toxin enthalten mußten, von geringfügigen örtlichen Schwellungen abgesehen, indifferent waren. Wir kommen auf diesen Punkt später noch einmal zurück.



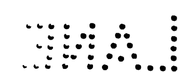
jenigen nicht nachsteht, der durch Einverleibung von Giftlösungen allein erworben wird. Vereinzelte Abweichungen von dieser Regel sind möglicherweise darin begründet, daß der Zeitpunkt für die Erprobung der Immunität im einzelnen Falle zu früh gewählt war.

Wir waren bisher auch nicht in der Lage, über den Mechanismus der Immunisierung mit Serum-Toxingemischen eine klare Vorstellung zu gewinnen. Wenn an eine im Körper des behandelten Tieres vor sich gehende Lösung von Gift und Gegengift gedacht werden soll, wozu viele Forscher in analogen Fällen geneigt sind, muß diese in der Regel sehr allmählig und derart vor sich gehen, daß zu keiner Zeit größere Mengen von Gift in Freiheit sind, da z. B. bei Schafen selbst nach Injektion der 100fachen tödlichen Dosis (im Gemenge) niemals auch nur die geringste Giftwirkung zutage trat. Mit der Annahme einer nur partiellen Giftabspaltung stünde aber die Intensität des Giftschutzes, der im angeführten Fall ein ziemlich hoher war (die 15fache tödliche Dosis wurde in der Folge reaktionslos vertragen, in einem zweiten Falle nach Injektion der 25fachen tödlichen [mit Serum neutralisierten] Giftmenge, gleichfalls die 15fache tödliche Dosis), einigermaßen im Widerspruch.[1])

Bemerkenswert ist ferner, daß die Immunisierung beim Rind, Schaf und Kaninchen gleichmäßig gut gelang, wenn zur Absättigung Immunserum vom Rinde verwendet wurde; es verschlägt also im Einzelfalle nichts, ob das neutralisierende Serum von der eigenen oder einer fremden Tierspezies stammt. Kaninchen wurden übrigens auch durch Gemische, die mit Kaninchenserum hergestellt waren, vortrefflich gegen das Gift geschützt.

Die Ähnlichkeit in der Wirkung, welche Giftlösungen und Serum-Toxingemische hinsichtlich der Immunisierung ausüben, findet ihre Bestätigung auch darin, daß die mit Gemischen immunisierten Tiere ein antitoxinhaltiges Serum erwerben. Wir begnügten uns zunächst damit, nur den prinzipiellen Nachweis von Antitoxin

[1]) Jedenfalls spielt auch der Serumzusatz als solcher — etwa in dem Sinne, als ob es sich im wesentlichen um einen passiven Giftschutz handle — keine Rolle, da an Rindern und Schafen mit nur minimal überneutralisierten Serum-Toxingemischen der gleiche Effekt wie mit Gemischen, die einen größeren Serumüberschuß enthielten, erzielt wurde.



zu führen und untersuchten in einer Reihe von Versuchen das Serum von Tieren, die wiederholt mit Serum-Toxingemischen behandelt worden waren (Rinder, Kaninchen), daraufhin.

Die Wertigkeit des Serums war in keinem Falle zur Zeit der Erprobung eine sehr hohe, immerhin ließ sich die Gegenwart von Antikörpern regelmäßig nachweisen.

Über das Verhalten der Serum-Toxingemische gegenüber äußeren Einflüssen haben wir noch nicht sehr zahlreiche Erfahrungen gesammelt. Dies soll in der Zukunft geschehen, da die Frage für die Praxis eine Bedeutung hat.

Wir konnten bisher die Haltbarkeit dieser Gemische nicht durch den Tierversuch feststellen. Wohl aber gewannen wir Anhaltspunkte dafür, daß die Toxin-Antitoxinverbindung nach mehreren Wochen noch erhalten ist, da die ohne weiteres im Versuch erprobten gelagerten Gemische neues Gift nicht zu binden vermochten, während sie durch Erhitzen (1 Stunde auf 60°) so verändert wurden, daß sie neuerdings große Giftdosen neutralisierten.

Protokollauszüge.

a) Gewinnung des Serums.

Ein großer Teil der hier gemachten Angaben ist allerdings schon in früher mitgeteilten Protokollauszügen enthalten. Der besseren Übersicht halber wurden sie aber im nachfolgenden, mit Hervorhebung der Beziehungen zum Titel der Rubrik, wiederholt.

1) Junger schwarzer Stier (siehe auch pag. 35). 1. Februar 1901 Injektion von 1·5 *cm*³ Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter. Starke örtliche Reaktion, mäßiges Fieber. Am 18. Februar, 1., 11. und 19. März Injektion von 5, beziehungsweise 20, 40, 100 *cm*³ Giftlösung (subkutan). Nach der zweiten und dritten Injektion noch ziemlich starke Reaktion, später rufen die Injektionen keine allgemeinen oder örtlichen Krankheitserscheinungen hervor.

Zwei Tage nach der letzten Injektion (100 *cm*³) wird aus einer Schweifarterie eine kleine Portion Blut (zirka 50 *cm*³) entnommen.

23. März 1901. Ein Meerschweinchen erhält 1 *cm*³ $^1/_5$ Normalgiftlösung + 0·5 *cm*³ des Immunserums (in vitro gemischt) injiziert., 24. März. Leichte Schwellung, Tier munter. 26. März. Schwellung zurückgegangen.

23. März. Ein Meerschweinchen erhält 1 *cm*³ $^1/_5$ Normalgiftlösung + 0·5 *cm*³ eines Kontrollserums (gewonnen von einem nicht behandelten Jungstier). 25. März. Sehr starke Schwellung, 6 Uhr Temperatur im Rektum gemessen 35·3° C. 26. März. Das Tier wird verendet aufgefunden.

24. März. Ein großes Meerschweinchen erhält ein Gemisch von 2 *cm*³ $^1/_5$ Normalgiftlösung und 8 gtt. Immunserum unter die Bauchhaut injiziert.

Gleichzeitig wird einem zweiten, großen Meerschweinchen dieselbe Menge Giftlösung mit 8 gtt. Kontrollserum (Rind) einverleibt. 26. März. Das Kontrolltier stirbt unter typischen Erscheinungen, während das mit Toxin-Immunserumgemisch behandelte Tier nur eine geringfügige, lokale Schwellung aufweist und munter ist.

25. März. Einem Meerschweinchen werden 10 Uhr vormittags 1 *cm*³ Immunserum subkutan injiziert, abends 7 Uhr an einer anderen Stelle 2 *cm*³ $^1/_5$ Normalgiftlösung. In gleicher Weise erhält ein Kontrolltier 1 *cm*³ normales Rinderserum und 2 *cm*³ $^1/_5$ Normalgiftlösung. Das Kontrolltier geht nach 48 Stunden unter Temperaturabfall, schweren Schwellungen etc. ein, während das mit Immunserum vorbehandelte Tier nur eine geringfügige Schwellung aufweist und sonst normal bleibt.

Am 16. April und 2. Juni erhält das Rind 300, beziehungsweise 900 *cm*³ wirksamer Giftlösung. Am 20. Juli wird dem Tiere ein Aderlaß gemacht und das erhaltene Serum aufbewahrt.

Dasselbe zeigt folgenden Bindungswert: 2 Meerschweinchen erhalten 0·01, beziehungsweise 0·02 *cm*³ einer 2fachen Normalgiftlösung subkutan injiziert. Dieselben gehen nach 48 Stunden zugrunde.

Zwei andere Meerschweinchen erhalten je 1 *cm*³ derselben Giftlösung mit 0·01, beziehungsweise 0·02 *cm*³ des Immunserums gemischt, subkutan injiziert. Beide Tiere bleiben völlig munter, das mit 0·01 *cm*³ Serum (im Gemische) behandelte Tier weist eine starke, begrenzte Schwellung auf, die nach vier Tagen vollständig geschwunden ist. Das Serum war daher nach der üblichen Nomenklatur als ein 200faches Normalserum zu bezeichnen.

Am 4. November 1901. Injektion von 300 *cm*³ einer $^1/_2$ Normalgiftlösung. Keine Reaktion. 2. März 1902. 750 *cm*³ Normalgiftlösung injiziert, leichte örtliche Reaktion. 5. Juni. Injektion von 350 *cm*³ einer $^1/_2$ Normalgiftlösung. Keine Reaktion. 15. Januar 1903. Injektion von 300 *cm*³ einer 2fachen Normalgiftlösung. Das Tier reagiert ziemlich heftig mit Schwellungen, Fieber, gestörter Freßlust. Nach 3 Tagen ist das Tier ganz munter, Schwellungen im Abnehmen, Injektionsstellen noch schmerzhaft. 13. März. Injektion von 150 *cm*³ einer Normalgiftlösung. Leichte örtliche und allgemeine Reaktion. 15. März zirka 20 *cm*³ Blut aus einer Schweifarterie genommen. Vergleich der Wirksamkeit des abgeschiedenen Serums mit jener der $1^1/_2$ Jahre aufbewahrten Probe, vom gleichen Tier stammend: 1 Meerschweinchen erhält 1 *cm*³ Normalgiftlösung + 0·02 *cm*³ Serum alt (I), 1 Meerschweinchen 1 *cm*³ Normalgiftlösung + 0·05 *cm*³ Serum alt (II), 1 Meerschweinchen 1 *cm*³ Normalgiftlösung + 0·02 *cm*³ Serum neu (III), 1 Meerschweinchen 1 *cm*³ Normalgiftlösung + 0·05 *cm*³ Serum neu (IV).

I und II zeigen keine Reaktion, III bekommt intensive Schwellungen mit Hämorrhagien und verendet nach 48 Stunden. IV zeigt ein leichtes Infiltrat, ist im übrigen munter. Das zuletzt gewonnene Blutserum des Jungstieres hatte demnach eine geringere Wirksamkeit als das vor $1^1/_2$ Jahren gewonnene, das überdies seine volle Wirksamkeit bewahrt hatte!

25. März. Injektion von 400 *cm*³ Normalgiftlösung. Keine Reaktion. 5. April und 15. April: Injektion von je 300 *cm*³ Normalgiftlösung, gleichfalls reaktionslos vertragen. Aderlaß am 19. April, 1250 *cm*³ Serum gewonnen.

Abermals mit den lange aufbewahrten Proben von Serum verglichen. Zwei Meerschweinchen erhalten je 1 cm^3 $^1/_2$ Normalgiftlösung + 0·005 cm^3 Serum alt. Leichte Schwellung, Tiere munter. 2 Meerschweinchen erhalten 1 cm^3 $^1/_2$ Normalgiftlösung + 0·005 cm^3 Serum neu. Keine Schwellung, Tiere munter. Die Schutzkraft des Serums hatte demnach, offenbar unter dem Einflusse der nun wieder häufiger vorgenommenen Behandlung wieder zugenommen!

2) Junger, braunscheckiger Stier (siehe auch pag. 39). Am 19. Januar 1903 3 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung injiziert. Intensive Reaktion. 30. Januar, 10. und 25. Februar 10, 20, 40 cm^3 einer Normalgiftlösung, beziehungsweise 2fachen Normalgiftlösung injiziert. Leichte Reaktion, ungestörter Ablauf. 7. März. Blut aus einer Schweifvene genommen. Serumprüfung: 1 Meerschweinchen bekommt 1 cm^3 einer Normalgiftlösung + 0·4 cm^3 Serum (I), ein zweites dieselbe Giftmenge + 0·1 cm^3 Serum (II), ein drittes dieselbe Giftmenge + 0·04 cm^3 Serum (III). Gleichzeitig wird 3 Meerschweinchen ein Gemenge, bestehend aus der gleichen Menge Giftlösung und 0·4, 0·1, 0·04 cm^3 normalen Rinderserums, injiziert. Die Kontrolltiere gehen sämtlich in 18 Stunden zugrunde. Typischer Befund. Meerschweinchen I und II zeigen keine Schwellungen, sind völlig munter. III stirbt unter typischen Erscheinungen nach 48 Stunden. Das Serum (nach 4 Injektionen mit zusammen 73 cm^3 Normalgiftlösung, beziehungsweise zweifacher Normalgiftlösung) ist deshalb stärker als ein 10faches Normalserum.

18. März. Injektion von 100 cm^3 Normalgiftlösung, keine Reaktion. Am 25. März wird der Stier kastriert. Ungestörter Verlauf der Wundheilung. 22. April, 11. Mai, 20. Juni 1903 Injektion von 250, 300, 150 cm^3 einer (zirka) Normalgiftlösung. Aderlaß am 1. Juli 1903. Serum sehr wirksam; 0·025 cm^3 neutralisieren 1 cm^3 einer 10fachen Normalgiftlösung, demnach 400faches Normalserum! 4. und 20. Juli Injektion von je 400 cm^3 einer 5fachen Normalgiftlösung. Keine Reaktion! 25. Juli Aderlaß. Serum aufbewahrt. (Wirkungswert: 400fach Normal.)

3) Zwei Jungrinder (siehe auch pag. 39) am 19. Januar 1903 mit je 3 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung behandelt. Intensive Reaktion. 30. Januar, 10. und 25. Februar Injektion von 10, 20, 40 cm^3 einer Normalgiftlösung, beziehungsweise einer 2fachen Normalgiftlösung. Geringgradige allgemeine und örtliche Reaktion. Am 7. März wird beiden Tieren und einem Kontrolltiere Blut aus einer Schweifvene entnommen.

Die Eichung ergab folgendes Resultat:

Meerschweinchenversuch:

Jungrind	1 cm^3 2fache Normalgiftlösung +		
	0·4 cm^3 Serum	0·1 cm^3 Serum	0·05 cm^3 Serum
I	Keine Schwellung	Keine Schwellung	Sehr starke Schwellung, Tier bleibt am Leben.
II	„ „	„ „	Tot in 4 Tagen.
Kontrolltier	tot in 20 Stunden	tot in 20 Stunden	Tot in 16 Stunden.

Das Serum der beiden Jungrinder (je 4 Injektionen mit zusammen 73 cm^3 Giftlösung) ist deshalb stärker als ein 40-, beziehungsweise 20faches Normalserum.

4) Ein kleines graues Kaninchen (siehe auch pag. 33) erhält 0·01 cm^3 einer Normalgiftlösung unter die Rückenhaut injiziert. Mäßige Reaktion.

Nach 6 Tagen 0·03 cm^3 Normalgiftlösung injiziert, die eine beträchtliche Schwellung hervorrufen. Nach weiteren 8 Tagen Injektion von 0·1 cm^3 Normalgiftlösung, nach 5 Tagen von 0·4 cm^3, nach 6 Tagen von 2·0 cm^3, nach weiteren 4 Tagen von 5 cm^3 Normalgiftlösung. Keine Reaktion. Entnahme von Blut aus der Ohrvene. Prüfung auf Antikörper: Ein Meerschweinchen erhält 1 cm^3 einer zirka $^1/_{20}$ Normalgiftlösung + 0·05 cm^3 des Immunserums. Nach 24 Stunden starke Schwellung, Tier munter. Ein Meerschweinchen erhält 1 cm^3 derselben Giftlösung + 0·5 cm^3 eines normalen Kaninchenserums (Kaninchen A). Bereits nach 8 Stunden starke Schwellung, Tier aber munter, bleibt am Leben. Ein Meerschweinchen erhält 0·2 cm^3 derselben Giftlösung allein. Stirbt typisch nach 48 Stunden. In diesem Versuche hatte also das normale Kaninchenserum ebenfalls antitoxische Wirkungen entfaltet.

Die gleiche Immunserumprobe wird mit einer stärkeren Giftlösung geprüft: Ein Meerschweinchen erhält 1 cm^3 10fache Normalgiftlösung, vermengt mit 0·05 cm^3 Immunserum, ein zweites die gleiche Menge Giftlösung mit 0·5 cm^3 normalen Kaninchenserums (Kaninchen A). Beide Tiere gehen typisch nach 7 Stunden zugrunde.

Ein Meerschweinchen erhält 1 cm^3 derselben Giftlösung mit 0·2 cm^3 Immunserum, ein zweites 0·5 cm^3 Giftlösung mit 1·25 cm^3 normalen Kaninchenserums (Kaninchen A). Beide Tiere gehen nach 16 Stunden ein.

Dem grauen Kaninchen werden weiters 30 cm^3 einer 10fachen Normalgiftlösung subkutan injiziert. Leichte örtliche Schwellung, die nach 3 Tagen geschwunden ist.

Abermals Entnahme von Blut und Eichung des Serums. Zwei Meerschweinchen erhalten 1 cm^3 normales Kaninchenserum (Kaninchen B) + 0·2 cm^3, beziehungsweise 0·1 cm^3 einer 10fachen Normalgiftlösung. Beide Tiere starben nach 20 Stunden.

Ein Meerschweinchen erhält 0·4 cm^3 10fache Normalgiftlösung + 1 cm^3 Immunserum. Das Tier ist munter und zeigt keine Schwellung. Ein Meerschweinchen erhält 1 cm^3 10fache Normalgiftlösung + 0·2 cm^3 Immunserum. Das Tier stirbt nach 20 Stunden.

Weitere Injektion von 30 cm^3 10facher Normalgiftlösung. Entnahme von Blut aus der Carotis und Eichung des Serums:

Drei Meerschweinchen erhalten je 1 cm^3 normales Kaninchenserum (Kaninchen C) + 0·005, beziehungsweise 0·01 und 0·05 cm^3 einer 5fachen Normalgiftlösung. Ein viertes Meerschweinchen erhält 0·005 cm^3 Giftlösung allein. Alle 4 Tiere starben nach 24 Stunden unter typischen Erscheinungen. Drei Meerschweinchen erhalten gleichzeitig 0·5 cm^3 derselben Giftlösung + 0·1 (I), 0·25 (II) und 0·5 cm^3 (III) Immunserum des im Versuche stehenden Kaninchens. Tier I stirbt nach 24 Stunden, Tier II zeigt ein starkes Infiltrat und ist munter, Tier III reagierte weder lokal noch im Allgemeinbefinden. Das Kaninchen besaß demnach ein (mindestens) 10faches Normalserum.

Es verdient Beachtung, daß hier trotz hoher aktiver Immunität des Tieres der Titer des Serums nicht höher stieg und hinter jenem der Rinderimmunsera weit zurückblieb.

b) Giftbindende Fähigkeit des Immunserums.

An dieser Stelle können nicht alle einschlägigen Versuche mitgeteilt werden, da hierfür der gebotene Raum nicht ausreichen würde. Wir beschränken uns auf die Anführung der wichtigsten.

1) Rinderserum, von einem Jungstier stammend, der im ganzen 73 *cm*³ Normalgiftlösung, beziehungsweise 2fache Normalgiftlösung, injiziert bekommen hatte.

Vier Meerschweinchen erhalten je 1 *cm*³ einer 2fachen Normalgiftlösung mit einem Zusatze von 0·5 (I), 0·2 (II), 0·1 (III) und 0·05 (IV) *cm*³ des Serums. II und III reagieren nicht, IV zeigt eine starke Schwellung mit Hämorrhagien, erholt sich aber. I, das die größte Serummenge erhalten hatte (!), zeigt schon nach 24 Stunden eine starke Schwellung mit demarkierender Entzündung. Dabei ist das Tier nicht mehr munter. Nach 3 Tagen wird es verendet aufgefunden. Die Sektion ergab typischen Befund (Sterilität der Ödemflüssigkeit).

2) 12 Meerschweinchen (6 größere, 6 kleinere) erhalten abgestufte Mengen einer ½ Normalgiftlösung, die mit Rinderimmunserum (400fach normal) überneutralisiert ist, und zwar ist das Verhältnis von Giftlösung und Serum (mit 2 Varianten) stets dasselbe.

Der Versuch zeigt, daß auch beträchtlich überneutralisierte Giftlösungen unter Umständen, namentlich bei kleineren Tieren, noch Schwellungen hervorrufen können, wenn die absolute Giftdosis eine hohe ist.

Meerschweinchenversuch:

Serumdosis 200fach N. *cm*³	2 *cm*³ ½ Normalgiftlösung Meerschweinchen		0·2 *cm*³ ½ Normalgiftlös. Meerschweinchen		0·02 *cm*³ ½ Normalgiftlös. Meerschweinchen	
	groß	klein	groß	klein	groß	klein
0·5	Leichte Schwellung, Demark. angedeutet	Starke Schwellung mit Demark. und Nekrose				
0·1	Leichte Schwellung	Deutliche Schwellung mit Demark.				
0·05			Keine Schwellung	Keine Schwellung		
0·01			dto.	dto.		
0·005					Keine Schwellung	Keine Schwellung
0·001					dto.	dto.

3) Zwei kleine Meerschweinchen erhalten je 2 *cm*³ Normalgiftlösung + 0·5 *cm*³ 400faches Normalserum unter die Bauchhaut injiziert.

Gleichzeitig erhalten 2 kleine Meerschweinchen je 2 *cm*³ des Serums allein. Letztere zeigen nach 24 Stunden eine geringe diffuse Schwellung, die nach 48 Stunden völlig rückgebildet ist. Die beiden mit Gemischen behandelten Meerschweinchen weisen starke Schwellungen auf, die zur partiellen Nekrose der Haut und Geschwürsbildung führen.

4) 8 große Meerschweinchen erhalten je 2 *cm*³ $^1/_3$ Normalgiftlösung + 0·02, 0·05, 0·1, 0·2, 0·3, 0·5, 1 und 2 *cm*³ 400faches Normalserum. Die Tiere weisen (ohne Gesetzmäßigkeit) leichte Schwellungen auf, die nach 24 Stunden zurückgehen. Alle Tiere sind munter.

5) 8 mittelgroße Meerschweinchen erhalten 0·005, 0·03, 0·05, 0·1, 0·2, 0·5 und 1·0 *cm*³ 400faches Normalserum intraperitoneal injiziert. Tags darauf erhalten sämtliche Tiere und ein Kontrolltier je 0·05 *cm*³ einer 10fachen Normalgiftlösung.

Siehe nachfolgende Tabelle:

Meerschweinchenversuch:

Vorbehandelt mit *cm*³ Serum (400fach N.) +								Kontroll-Tier
0·005	0·01	0·03	0·05	0·1	0·2	0·5	1·0	
sehr starke Schwellungen mit Hämorrh.		starke Schwellung mit Hämorrhagien	starke Schwllg. keine Hämorrhagien	geringe Schwellung	fast glatt	sehr geringe Schwellung	glatt	sehr starke Schwllg. Hämorrhagien
erholt sich	tot in 48 St.	bleibt am Leben						tot in 24 St.

6) 4 Meerschweinchen (klein) erhalten 0·1, 0·2, 0·5 und 1 *cm*³ 400faches Normalserum intraperitoneal und unmittelbar darauf 0·02 *cm*³ einer 10fachen Normalgiftlösung subkutan injiziert. Ein Kontrolltier, mit 0·02 *cm*³ derselben Giftlösung behandelt, stirbt in 18 Stunden. Alle vorbehandelten Tiere bleiben munter.

Die mit 1 *cm*³ und 0·5 *cm*³ Serum vorbehandelten Tiere zeigen mäßige Schwellungen, die mit 0·2 und 0·1 *cm*³ Serum vorbehandelten Tiere zeigen auch Hämorrhagien.

7) 5 große Meerschweinchen erhalten 0·005, 0·01, 0·02, 0·05, 0·1 *cm*³ 400faches Normalserum intraperitoneal und unmittelbar darauf 0·03 *cm*³ einer $^1/_{10}$ Normalgiftlösung[1]) subkutan injiziert. Da nach 5 Stunden die Schwellungen nur sehr gering waren (auch bei einem gleichzeitig mit 0·03 *cm*³ Giftlösung behandelten Kontrolltier), wurde vermutet, daß die Gift-

[1]) Der Titer der Lösung wurde ursprünglich für höher angenommen.

lösung stark abgenommen hatte, weshalb neuerlich 0·2 *cm*³ derselben sämtlichen Tieren injiziert wurden. Alle Tiere mit Ausnahme des Kontrolltieres bekamen nur mäßige Schwellungen und blieben munter. Das Kontrolltier erkrankte ziemlich rasch und starb nach 48 Stunden.

8) 5 Meerschweinchen erhalten 0·3 *cm*³ einer $^1/_5$ Normalgiftlösung subkutan injiziert. Nach 20 Minuten, beziehungsweise 4, 6, 8 Stunden wird 4 Tieren je 1 *cm*³ 200faches Normalserum unter die Rückenhaut injiziert.

Meerschweinchenversuch:

	Kein Serum	Intervall zwisch. Gift- u. Seruminjekt.			
		20 Min.	4 Stund.	6 Stund.	8 Stund.
0·3 *cm*³ $^1/_5$ Normalgiftlösung (= 6fache tödliche Dosis)	tot in 48 St.	starke Schwellg. Tier munter lebt	stirbt nach 5 Tagen	starke Nekrose der Haut, lebt	stirbt nach 36 Stund.

Nachfolgend angeführte Versuche zeigen, in welchem Verhältnis Giftigkeit und Bindungsvermögen abnehmen.

9) Von einer (zirka) Normalgiftlösung (0·01 *cm*³ tötet ein Meerschweinchen in 72 Stunden) wird der Bindungswert für ein 200faches Normalserum ermittelt. Die Titrierung ergibt das erwartete Resultat.

Meerschweinchenversuch:

1 *cm*³ Giftlösung +		
0·005 *cm*³ Serum	0·003 *cm*³ Serum	0·001 *cm*³ Serum
glatt	in 48 Stunden tot	in 24 Stunden tot

Die Giftlösung wird durch 25 Minuten mit Luft (Glasperlen) geschüttelt. Die Bestimmung der tödlichen Dosis der geschüttelten Lösung ergibt:

Meerschweinchenversuch:

1 *cm*³	0·1 *cm*³	0·01 *cm*³
tot in 24 Stunden	tot in 48 Stunden	mäßiges Infiltrat Tier munter

Der Bindungswert der geschüttelten Toxinlösung:

Meerschweinchenversuch:

1 cm^3 geschüttelte Giftlösung +		
0·003 cm^3 Serum	0·002 cm^3 Serum	0·001 cm^3 Serum
glatt	glatt	starkes Infiltrat, das in 48 Stunden zurückgeht

Die Lösung hatte demnach durch das Schütteln an Giftigkeit und Bindungswert stark abgenommen.

10) Die in Versuch 9 verwendete Giftlösung wurde nach 17 Tage dauerndem Lagern auf ihre Giftigkeit und ihr Serumbindungsvermögen neuerdings geprüft.

Meerschweinchenversuch:

cm^3 gelagerte Giftlösung			
0·05	0·1	0·2	0·3
Schwellung ohne Hämorrhagien	starkes Infiltrat mit Hämorrhagien	stirbt in 72 Stunden	stirbt in 42 Stunden

Die Titrierung mit Serum (200fach normal) ergibt:

Meerschweinchenversuch:

1 cm^3 gelagerte Giftlösung +					
0·0001 cm^3 Ser.	0·0003 cm^3 Ser.	0·0005 cm^3 Ser.	0·0008 cm^3 Ser.	0·001 cm^3 Ser.	0·0012 cm^3 Ser.
stirbt in 24 Stunden	stirbt in 24 Stunden	stirbt in 48 Stunden	starke Schwellung	geringe Schwellung	glatt

Es war demnach durch das Lagern eine starke Abnahme der Giftigkeit und des Serumbindungsvermögens erfolgt.

Ob Giftigkeit und Bindungsvermögen im gleichen Verhältnis abnehmen, konnte aus Versuch 9 und 10 nicht ersehen werden, da die Differenzen zwischen den injizierten Mengen zu groß waren, überdies das Tiermaterial nicht gleichmäßig genug ausgewählt war. (Meerschweinchen von 200 bis 400 *g*.) Aus diesem Grunde wurden weitere Versuche angestellt.

11) Eine Giftlösung zeigt folgende Verhältnisse:

Meerschweinchenversuch:

cm^3 frische Giftlösung.

0·03	0·02	0·01	0·0075	0·005
tot in 48 Stunden	tot in 24 Stunden	tot in 24 Stunden	tot in 48 Stunden	geringe Schwellung

Die Titrierung dieser Giftlösung mit 400fachem Normalserum ergibt:

Meerschweinchenversuch:

1 cm^3 Giftlösung +			
0·004 cm^3 Ser.	0·003 cm^3 Ser.	0·003 cm^3 Ser.	0·002 cm^3 Ser.
glatt	tot nach 4 Tagen	tot nach 3 Tagen	tot nach 2 Tagen

Die Giftlösung wird 1 Stunde mit Luft (Glasperlen) geschüttelt. Die Prüfung der Giftigkeit ergibt:

Meerschweinchenversuch:

cm^3 geschüttelte Giftlösung						
0·02	0·05	0·1	0·25	0·5	0·75	1·0
glatt	glatt	geringe Schwellg.	starke Schwellg.	starke Schwellg.	starke Schwellg.	starke Schwellg.
alle Tiere munter.						

Für die Prüfung des Serumbindungsvermögens wurde in einer größeren Reihe zu je 1 cm^3 geschüttelter Giftlösung die zur Neutralisation von 1 cm^3 nicht geschüttelter Giftlösung nicht ausreichende Menge von Serum (in diesem Falle zirka die Hälfte = 0·002 cm^3) gegeben und abgestufte Mengen frischer Giftlösung hinzugefügt. An der Grenze von Schwellung machender Wirkung und tödlichem Verlauf mußte die Summe der Gifteinheiten gleich sein der Summe der Antitoxineinheiten, wenn die Abnahme von Giftigkeit und Serumbindungsvermögen parallel gehen. Zu den Einzelheiten sei noch bemerkt, daß wir zur Kontrolle in einem zweiten Versuche die Serummenge etwas ermäßigten, wodurch nur minimale Veränderungen geschaffen werden durften. Die Korrektur von 10/12 ergab sich aus einer nicht ganz einwandfreien Bereitung der Lösungen (es wurden nämlich zu 10 cm^3 Giftlösung 2 cm^3 verdünntes Serum gegeben).

Meerschweinchenversuch:

10/12 × (1 cm^3 geschüttelte Giftlösung + 0·002 cm^3 400faches Serum) + frische Giftlösung. (cm^3):						
0·03	0·05	0·1	0·25	0·5	0·75	1·0
glatt	minim. Schwellg.	leichte Schwellg.	leichte Schwellg.	tot in 48 Stund.	tot in 24 Stund.	tot in 24 Stund.

Trachtet man für [1 cm^3 Giftlösung (geschüttelt) + 0·002 cm^3 400faches Serum + 0·5 cm^3 frischer Giftlösung] Giftigkeit und Bindungsvermögen rechnungsmäßig auszudrücken, so ergibt sich:

0·5 cm^3 frischer Giftlösung (0·0075 cm^3 tötl. Min.-Dos.) entsprechen 66·66 Gifteinheiten

$\frac{10}{12}$ cm^3 geschüttelter Giftlösung repräsentieren weniger als 1 tödl. Dosis, daher Summe der Gifteinheiten gleich **66·66—67** (?).

Angenommen, daß 0·0035 cm^3 die Serummenge vorstellt, die 1 cm^3 der Giftlösung eben neutralisiert, so sind $0·002 \times \frac{10}{12} = 0·00166$ cm^3 Serum imstande, (0·0035 : 133·3 = 0·00166 : x) **68·2** Gifteinheiten zu binden. Das Tier, das das oben angeführte Serum-Giftgemenge injiziert bekam, mußte daher der Giftwirkung von 3·46—3·8 tödlichen Dosen erliegen.

Rechnet man hingegen für [1 cm^3 Giftlösung + 0·002 cm^3 Serum + 0·25 cm^3 frische Giftlösung] die Werte aus, so ergibt sich, daß dieses Gemenge einen Serumüberschuß aufweist, der imstande ist, **30·13** tödliche Minimaldosen zu binden. Das Tier mußte deshalb am Leben bleiben.

In gleicher Weise verlief der Parallelversuch.

Meerschweinchenversuch:

10/12 × (1 cm^3 geschüttelte Giftlösung + 0·00018 cm^3 400faches Serum) + frische Giftlösung (cm^3):						
0·03	0·05	0·1	0·25	0·5	0·75	1·0
glatt	glatt	leichte Schwellung	leichte Schwellung	tot nach 56 Stunden	tot nach 24 Stunden	tot nach 24 Stunden

Da die Intervalle zwischen den einzelnen Giftdosen in diesem Versuche immerhin noch ziemlich groß gewählt waren, wurde ein neuerlicher Versuch mit einer anderen Giftlösung angestellt.

12) Von einer in Eis ohne Chloroform konservierten, sehr wirksamen Giftlösung wird zunächst die Giftigkeit bestimmt.

Meerschweinchenversuch (200 *g* schwere Tiere):

*cm*³ Giftlösung			
0·01	0·005	0·003	0·001
tot in 20 Stunden	tot in 24 Stunden	tot in 40 Stunden	tot in 48 Stunden

Die Giftigkeit war demnach entsprechend derjenigen einer 10fachen Normalgiftlösung.

Die Giftlösung wurde an zwei aufeinander folgenden Tagen jedesmal $^1/_2$ Stunde intensiv mit Luft (Glasperlen) geschüttelt, wobei der Titer der Lösung in folgender Weise sich änderte:

Meerschweinchenversuch (200 *g* schwere Tiere):

*cm*³ geschüttelte Giftlösung.

1	0·9	0·8	0·7	0·6	0·5	0·4	0·3	0·2	0·1	0·05	0·035	0·02	0·01
tot in 24 Std.	tot in 24 Std.	tot in 24 Std.	tot in 24 Std.	tot in 24 Std.	tot in 24 Std.	tot in 48 Std.	tot in 24 Std.	tot in 48 Std.	tot in 72 Std.	tot in 48 Std.	Infiltrat, lebt	klein. Infiltrat, lebt	sehr klein. Infiltrat

Nachdem zunächst eine kleine Versuchsreihe ergab, daß zur Absättigung der in 1 *cm*³ frischer Giftlösung vorhandenen Giftmenge zwischen 0·02 und 0·03 *cm*³ des 400fachen Normalserums nötig waren, wurde die genaue Grenze durch folgende Versuchsreihe ermittelt.

Meerschweinchenversuch (200 *g* schwere Tiere):

1 *cm*³ frische Giftlösung + 0·020 *cm*³ Serum — tot in 48 Stunden
1 *cm*³ „ „ + 0·021 *cm*³ „ — „ „ 48 „
1 *cm*³ „ „ + 0·022 *cm*³ „ — „ „ 48 „
1 *cm*³ „ „ + 0·023 *cm*³ „ — „ „ 48 „
1 *cm*³ „ „ + 0·024 *cm*³ „ — „ „ 4 Tagen
1 *cm*³ „ „ + 0·025 *cm*³ „ — mäßige Schwellung, lebt
1 *cm*³ „ „ + 0·026 *cm*³ „ — Schwellung
1 *cm*³ „ „ + 0·027 *cm*³ „ — geringe Schwellung
1 *cm*³ „ „ + 0·028 *cm*³ „ — glatt
1 *cm*³ „ „ + 0·029 *cm*³ „ — glatt
1 *cm*³ „ „ + 0·030 *cm*³ „ — glatt
1 *cm*³ „ „ + 0·031 *cm*³ „ — glatt
1 *cm*³ „ „ + 0·032 *cm*³ „ — glatt.

Den Bindungswert der geschüttelten Giftlösung zeigt folgende Tabelle (nicht völlig ausreichende Serummenge).

Meerschweinchenversuch (200 g schwere Tiere):

			Frische Giftlösung	
1 cm³	geschüttelte Giftlösung	+ 0·0225 cm³ Serum	+ 0·1 cm³	— glatt
1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 0·2 cm³	— glatt
1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 0·3 cm³	— glatt
1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 0·4 cm³	— glatt
1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 0·5 cm³	— gering. Infiltrat
1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 0·6 cm³	— starkes Infiltrat
1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 0·7 cm³	— mäßige Schwellung ohne Hämorrhagien
**1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 0·8 cm³	— starke Schwellung ohne Hämorrhagien
*1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 0·9 cm³	— tot in 3 Tagen
1 cm³	" "	+ 0·0225 cm³ "	+ 1·0 cm³	— tot in 2 Tagen.

Rechnet man wieder aus der Tabelle die Grenzwerte für das Bindungsvermögen der geschüttelten Giftlösung aus, so ergibt sich für den Ausdruck [1 cm³ + 0·0225 cm³ Serum + 0·9 cm³ frischer Giftlösung] folgendes:

1 cm³ geschüttelte Giftlösung (angenommen, daß 0·04 cm³ gerade töten) repräsentiert 25 tödliche Dosen. 0·9 cm³ frischer Giftlösung entsprechen 900 tödliche Dosen, zusammen 925 tötliche Dosen.

0·0225 cm³ Serum konnten 900 tödliche Dosen binden (da 0·025 cm³ 1000 tödliche Dosen binden). Das Tier * mußte daher zugrunde gehen, da in dem eingespritzten Gemenge ein Überschuß von 25 tödlichen Dosen enthalten war.

Wichtiger ist die Berechnung des anderen Grenzwertes [1 cm³ geschüttelte Giftlösung + 0·0225 cm³ Serum + 0·8 cm³ frischer Giftlösung].

1 cm³ geschüttelte Giftlösung	= 25	tödliche Dosen
0·8 cm³ frischer Giftlösung	= 800	" "
Summe	= 825	tödliche Dosen

Die dem Gemische beigegebene Serummenge von 0·0225 cm³ konnte 900 tödliche Dosen binden, woraus sich ein Überschuß von einer, 75 tödliche Dosen neutralisierenden Serummenge ergibt. Das Tier ** mußte also am Leben bleiben. Für die genauere Festlegung dieser Verhältnisse wäre allerdings eine weitere Einengung der Versuchsgrenzen nötig gewesen. Bedenkt man aber, daß das Tier, das 0·9 cm³ frischer Giftlösung im Gemische injiziert bekam, erst nach 3 Tagen starb, demnach höchst wahrscheinlich der größte Teil des Toxins durch das von der geschüttelten Giftlösung nicht verankerte Serum gebunden war und daß das Tier mit 0·8 cm³ frischer Giftlösung im Gemische keine Hämorrhagien zeigte, nicht krank war, demnach einen voraussichtlich erheblichen Serumüberschuß bekommen hatte (siehe gleich unten), so kann der Versuch befriedigen.

Man wird mit der Annahme nicht fehl gehen, daß die geschüttelte Giftlösung eben nur die ihrem Toxingehalte entsprechende Serummenge zu binden vermochte. Es muß übrigens fraglich bleiben, ob eine ganz einwand-

freie Klärung durch weitere Versuche erreicht werden kann, da die Grenzen der Neutralisationswirkung immer etwas verwischt sind.

Diesbezüglich ist ja gerade dem Versuche noch folgendes zu entnehmen. Wie aus der Wertbestimmung der frischen Giftlösung ersichtlich ist, waren 0·028 *cm*³ Serum nötig, um 1 *cm*³ Giftlösung derart zu neutralisieren, daß bei den Versuchstieren keine Schwellungen auftraten, 0·025 *cm*³ verhinderten aber bereits den tödlichen Verlauf. 3 bis 4 *mg* 400faches Normalserum, die imstande wären, 120 bis 160 tödliche Dosen zu neutralisieren, wurden demnach zur Absättigung der „Schwellung machenden" Wirkung von 1 *cm*³ 10facher Normalgiftlösung verbraucht.

Ferner: 0·9 *cm*³ frische Giftlösung + 0·0225 *cm*³ Serum + 1 *cm*³ geschüttelte Giftlösung führten den Tod des Tieres herbei. 0·4 *cm*³ frische Giftlösung im gleichen Gemisch führten zu keiner Erkrankung des Meerschweinchens. Während nun 0·5 *cm*³ Giftlösung bereits ein geringes Infiltrat hervorriefen, erzeugten 0·6, 0·7, 0·8 *cm*³ nur Schwellungen, ohne daß die Tiere starben oder erkrankten. Es entspricht die Breite der Schwellung machenden Zone hier 0·9—0·5 = 0·4 *cm*³ 10facher Normalgiftlösung = 400 tödlichen Einheiten.

13) Eine durch etwa 9 Monate gelagerte Giftlösung, ehemals einer $^1/_2$ Normalgiftlösung entsprechend, wird auf ihren nunmehrigen Giftwert geprüft. 2 *cm*³ der Lösung, einem Meerschweinchen subkutan injiziert, bewirken nur eine schlaffe Schwellung, die sich nach 48 Stunden zurückbildet. Die Giftlösung ist auch nicht imstande, das antitoxische Serum zu binden.

14) Eine Normalgiftlösung wird 1 Stunde auf 60° C. erwärmt. 1 *cm*³, einem Meerschweinchen subkutan injiziert, ist wirkungslos. Auch die Bindungsfähigkeit für Serum ist vollständig geschwunden oder hat mindestens stark abgenommen. Ein Meerschweinchen, dem 1 *cm*³ erwärmter Giftlösung + 0·001 *cm*³ 200faches Normalserum + 0·1 *cm*³ frische Normalgiftlösung injiziert wurden, wies keine Veränderungen auf.

15) Eine Normalgiftlösung wird 1 Stunde auf 60 bis 62° C. erwärmt. 0·5 *cm*³ und 0·2 *cm*³ sind bei Meerschweinchen wirkungslos. Auch die Bindungsfähigkeit für Serum ist vollständig geschwunden.

0·01 *cm*³ Normalgiftlösung + 0·000025 *cm*³ 400faches Normalserum, einem Meerschweinchen injiziert — glatt; 2 *cm*³ erwärmte Lösung + 0·000025 *cm*³ Serum + 0·01 *cm*³ Normalgiftlösung, einem zweiten Tier eingespritzt — glatt.

16) Einem Schafe werden gleichzeitig an zwei verschiedenen Körperstellen 10 *cm*³ 200faches Normalserum und 20 *cm*³ (!) einer Normalgiftlösung subkutan injiziert. Nach 24 Stunden wies die Stelle, an der die Giftlösung injiziert worden war (hinter der linken Schulter), eine faustgroße, flache Schwellung auf, die nach 3 Tagen geschwunden war. Ein gleichzeitig mit 2 *cm*³ (!) derselben Giftlösung behandeltes Schaf geht nach 48 Stunden unter typischen Erscheinungen ein.

17) Ein Jungstier erhält 20 *cm*³ 400faches Normalserum subkutan hinter der rechten Schulter injiziert. Nach 2 Tagen wird dieselbe Menge Serum hinter der linken Schulter injiziert. 21 Tage nach der ersten Injektion erhält der Stier 20 *cm*³ einer Giftlösung injiziert, die wider Erwarten — wie

durch einen unmittelbar nachher am Meerschweinchen angestellten Kontrollversuch ermittelt wurde — stark abgenommen hatte (0·1 cm^3 riefen nur starke Schwellung hervor). Tags darauf wurden neuerdings 40 cm^3 einer Giftlösung, von der 0·05 cm^3 ein Meerschweinchen in 5 Tagen töteten, hinter der rechten Schulter injiziert. Nach 24 Stunden tritt eine ziemlich beträchtliche Schwellung auf, die äußerst schmerzhaft ist und sich bis zum Ellbogen erstreckt. Nach 48 Stunden breitet sich dieselbe über die angrenzenden Partien der Unterbrust aus, geht jedoch bereits nach 72 Stunden wieder zurück. Allgemeinbefinden nicht gestört. Ein auffallender Schutz der Seruminjektionen gegenüber den nach wenigen Wochen erfolgten Toxininjektionen war demnach in diesem Falle nicht zu erkennen.

c) Wirkungsweise der Serum-Toxingemische im Tierversuche. Versuche an Meerschweinchen.

1) 4 große Meerschweinchen erhalten je 0·5 cm^3 Normalgiftlösung + 0·25 cm^3 200faches Normalserum, 4 andere große Meerschweinchen je 0·5 cm^3 Normalgiftlösung + 0·1 cm^3 desselben Serums. Die Tiere zeigen zum Teil leichte Schwellungen.

7 Tage nachher werden sämtlichen 8 Tieren und 2 nicht vorbehandelten je 0·02 cm^3 einer $^1/_2$ Normalgiftlösung subkutan injiziert. Sämtliche Tiere gehen in 48 Stunden ein.

2) 5 mittelgroßen Meerschweinchen werden je 0·02 cm^3 einer Normalgiftlösung, gemischt mit 0·0001 cm^3 200fachen Normalserums subkutan injiziert. Keine Reaktion. Nach 11 Tagen wird sämtlichen Tieren und einem Kontrolltier je 0·01 cm^3 einer $^1/_2$ Normalgiftlösung injiziert. Alle Tiere zeigen starke Infiltrate. Das Kontrolltier und 2 vorbehandelte Meerschweinchen bleiben am Leben, 3 vorbehandelte gehen nach 3, beziehungsweise 6 Tagen zugrunde.

3) 6 Meerschweinchen erhalten in Intervallen von 5 bis 6 Tagen je 0·01, 0·02, 0·05 und 0·2 cm^3 einer Normalgiftlösung, jedesmal mit dem 100. Teil eines 200fachen Normalserums gemengt, injiziert. Nach keiner Injektion treten bei den Tieren Schwellungen auf. 12 Tage später werden allen Tieren je 0·05 cm^3 einer $^1/_4$ Normalgiftlösung subkutan injiziert. Alle Tiere zeigen intensive, mit Hämorrhagien verbundene Schwellungen und gehen nach 24 bis 70 Stunden zugrunde.

4) 3 Meerschweinchen erhalten in Intervallen von 4 bis 8 Tagen jedesmal 0·02 cm^3 einer Normalgiftlösung + 0·00005 cm^3 eines 400fachen Normalserums. Keine Schwellungen. Im ganzen 5 Injektionen. 26 Tage nach der ersten Injektion werden allen Meerschweinchen und 2 Kontrolltieren je 0·005 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung subkutan injiziert. Alle Tiere gehen nach 48 Stunden zugrunde, 1 Kontrolltier verendet nach 4 Tagen.

5) 7 Meerschweinchen erhalten 6 Injektionen von je 0·2 cm^3 $^1/_2$facher Normalgiftlösung, versetzt mit 0·1, beziehungsweise 0·05 cm^3 eines 400fachen Normalserums. 32 Tage nach der ersten Injektion werden sämtlichen Tieren je 0·05 cm^3 einer $^1/_5$ Normalgiftlösung injiziert. Alle gehen nach 3 bis 4 Tagen zugrunde.

Versuche an Kaninchen.

1) 2 mittelgroße Kaninchen (A und B) erhalten je 5 cm^3 10facher Normalgiftlösung + 0·2 cm^3 400fachen Normalserums subkutan injiziert. Keine Schwellung, Tiere völlig munter. Nach 2 Tagen werden 10 cm^3 desselben Gemisches injiziert. Kaninchen A zeigt keine Erscheinungen, Kaninchen B geht nach 24 Stunden zugrunde. Sektionsbefund: Erguß in den Brustfellraum. Kaninchen A erhält dann nach 4 Tagen 10 cm^3 20facher Normalgiftlösung + 0·5 cm^3 400fachen Normalserums, nach weiteren 2 Tagen abermals 10 cm^3 dieses Gemisches, ohne irgendwie zu reagieren. 6 Tage nach der letzten Injektion wird das Tier tot aufgefunden. Erguß in die Körperhöhlen. Keine auffallende Veränderung entsprechend den Injektionsstellen.

2) 2 Kaninchen erhalten 1, beziehungsweise 3 cm^3 einer Normalgiftlösung, versetzt mit 0·01 (I), beziehungsweise 0·03 cm^3 (II) 200fachen Normalserums. Keine Reaktion. Nach 11 Tagen werden dem Kaninchen II und einem Kontrollkaninchen 0·2 cm^3 einer zirka $^1/_{10}$ Normalgiftlösung subkutan injiziert. Beide Tiere zeigen nur geringfügige Schwellungen, das vorbehandelte Kaninchen eher stärker. Nach 24 Stunden Injektion von je 1 cm^3 Normalgiftlösung. Beide Tiere gehen 8 Stunden nach der Injektion ein.

3) Einem mittelgroßen, grauen Kaninchen wird ein Gemisch von 5 cm^3 Normalgiftlösung und 0·25 cm^3 400fachen Normalserums (überschüssiges Serum!) subkutan injiziert. Keine Reaktion. Nach 10 Tagen erhält das Kaninchen, ebenso ein nicht vorbehandeltes Tier, 0·2 cm^3 einer 10fachen Normalgiftlösung injiziert. Beide Tiere gehen in 15 Stunden ein. Wenig ausgebreitete Schwellung an der Injektionsstelle. In beiden Pleurahöhlen Flüssigkeit.

4) 2 kleine Kaninchen erhalten je ein Gemisch von 5 cm^3 10facher Normalgiftlösung und 0·1 cm^3 400fachen Normalserums (überschüssige Giftlösung!). Beide Tiere zeigen Schwellungen, die aber im Verlaufe einer Woche sich zurückbilden. Eines der Tiere stirbt nach 13 Tagen. Das zweite erhält 16 Tage nach der Injektion 0·5 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung, ebenso werden 2 normalen Kaninchen 0·3, beziehungsweise 0·8 cm^3 derselben Giftlösung subkutan injiziert. Das vorbehandelte Kaninchen bleibt ganz munter, zeigt auch keine Schwellungen, die Kontrolltiere sterben beide nach 16 Stunden.

Bemerkenswert ist in diesem Versuche, daß ein Kaninchen ein Gemenge von Giftlösung und Serum überstand, das auf Grund der Eichung an Meerschweinchen zirka 1·0 cm^3 freier, 10facher Normalgiftlösung enthielt. Die Erklärung hierfür ist vorläufig ebenso schwierig zu geben, wie für die gelegentlich zu beobachtenden Anomalien der Erscheinungen nach Injektion von Gift-Serumgemengen bei Meerschweinchen.

5) Ein Kaninchen erhält ein Gemenge von 5 cm^3 Normalgiftlösung und 0·25 cm^3 400fachen Normalserums. Glatt, keine Reaktion.

Nach 16 Tagen Injektion von 0·5 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung. Gleichzeitig werden 2 Kontrolltieren (siehe oben Nr. 4) 0·3, beziehungsweise 0·8 cm^3 derselben Giftlösung subkutan injiziert. Die beiden Kontrolltiere sterben nach 16 Stunden; das vorbehandelte Kaninchen erwirbt eine starke, von Hämorrhagien begleitete Schwellung, die sich allmählich zurückbildet. Tier völlig munter.

6) Ein Kaninchen erhält ein Gemisch von 5 cm^3 Normalgiftlösung + 0·25 cm^3 400fachen Normalserums, nach weiteren 4 Tagen 7 cm^3 10facher Normalgiftlösung + 0·3 cm^3 Serum, nach weiteren 3 Tagen 10 cm^3 10facher Normalgiftlösung + 0·5 cm^3 Serum, nach weiteren 7 Tagen 20 cm^3 3facher Normalgiftlösung + 0·6 cm^3 Serum.

Niemals traten Reaktionen auf.

4 Tage nach der letzten Injektion wird das Tier entblutet und sein Serum, gleichzeitig mit einer vor der Behandlung des Tieres entnommenen Probe, auf einen Gehalt an Antitoxin geprüft. Leider konnte infolge mangels an Meerschweinchen die Eichung nicht zu Ende geführt werden, immerhin ergab der Versuch unzweideutig die Anwesenheit von Schutzstoffen:

Meerschweinchenversuch:

a)

0·5 cm^3 Kontrollserum	+ 0·005 cm^3 $^1/_5$ N.-Giftlös.	Starke Schwellung, die nach 48 Stunden schwächer wird und in 4 Tagen geschwunden ist.
	+ 0·01 cm^3 $^1/_5$ „	Sehr starke Schwellung mit Hämorrhagien.
	+ 0·05 cm^3 $^1/_5$ „	Ausgedehnte Schwellung, Tier nach 24 Stunden schwer krank, stirbt nach 68 Stunden.

b)

0·5 cm^3 Immunserum	+ 0·01 cm^3 $^1/_5$ N.-Giftlös.	Glatt, Tier munter.
	+ 0·05 cm^3 $^1/_5$ „	„ „ „
	+ 0·1 cm^3 $^1/_5$ „	Minimale Schwellung, Tier ganz munter.

7) 3 Kaninchen erhalten je 2 cm^3 5fache Normalgiftlösung + 1 cm^3 Immunserum vom Kaninchen (siehe Versuch 4, pag. 54). Keine Reaktion. Nach 10 Tagen, gleichzeitig bei 2 Kontrolltieren, Injektion von je 0·5 cm^3 einer bereits wenig wirksamen Giftlösung ($^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$ N.). Die 2 Kontrolltiere zeigen zwar beträchtliche Schwellungen, sind aber wie die vorbehandelten Tiere vollständig munter. 24 Stunden nach dieser Injektion werden allen Tieren neuerlich je 3 cm^3 einer $^1/_{10}$ Normalgiftlösung injiziert. 2 Tage darauf verenden die Kontrolltiere unter den gewöhnlichen Erscheinungen, während die vorbehandelten Tiere vollständig munter sind und mit Ausnahme eines

Tieres, das eine leichte Schwellung aufweist, auch örtlich keine Reaktion zeigen.

Versuche an Rindern.

1) Einem Jungrind wird ein Gemisch, bestehend aus 20 *cm*³ Normalgiftlösung und 2 *cm*³ 200faches Normalserum, subkutan injiziert. Keine örtlichen und allgemeinen Reaktionen.

Gleichzeitig werden 5 *cm*³ derselben Giftlösung (ohne Serum) einem zweiten Jungrind subkutan injiziert. Dieses weist bereits 20 Stunden später eine beträchtliche Schwellung auf, die in den nächsten Tagen bis in den Triel und die Unterbrust sich erstreckt, auch die Flankengegend einnimmt und erst nach etwa 2 Wochen gänzlich zurückgegangen ist. 18 Tage nach der Injektion werden beiden Jungrindern je 10 *cm*³ einer $^1/_2$ Normalgiftlösung einverleibt. Während das mit Giftlösung vorbehandelte Rind in der Folge eine etwa faustgroße Schwellung an der Injektionsstelle aufweist, zeigt sich beim anderen Rind nicht die geringste örtliche oder allgemeine Reaktion.

2) 2 Jungrinder erhalten von der in Versuch 1 verwendeten Giftlösung 5, beziehungsweise 10 *cm*³ mit 0·5, beziehungsweise 1 *cm*³ 200fachen Normalserums versetzt, hinter der linken Schulter injiziert. Keine Reaktion. Nach 26 Tagen werden den beiden Rindern und einem Kontrolltier je 10 *cm*³ einer $^1/_3$ Normalgiftlösung subkutan injiziert. Während das Kontrolltier eine enorme Schwellung akquiriert, die sich wieder in die Brust und den Triel erstreckt und in den nächsten Tagen auch auf das Abdomen übergreift, zeigt sich beim Jungrind, das mit 10 *cm*³ der neutralisierten Giftlösung vorbehandelt war, nur eine handtellergroße, flache Schwellung an der Impfstelle. Das zweite Jungrind (mit 5 *cm*³ neutralisierter Giftlösung vorbehandelt) zeigt eine etwas stärkere Schwellung an der Injektionsstelle, die jedoch Brust und Triel frei läßt und nur bis zum Ellbogen und in die angrenzenden Partien der Schultergegend sich erstreckt. Die Geschwulst ist bereits nach 48 Stunden in voller Rückbildung begriffen und nach 4 Tagen nicht mehr sichtbar, während das Kontrolltier, das durch etwa 5 Tage in merklicher Weise in seinen Bewegungen beim Aufstehen behindert ist, erst nach 2 Wochen ein wieder völlig normales Verhalten aufweist.

3) 3 Jungrinder erhalten 5 (I), beziehungsweise 10 (II) und 20 *cm*³ (III) Normalgiftlösung, die in jedem Falle mit 1 *cm*³ 200fachen Normalserums versetzt sind, subkutan. Nirgends örtliche Reaktion. Keine Allgemeinerscheinungen. Nach 15 Tagen werden einem Kontrolltier und den 3 Jungrindern je 5 *cm*³ Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter injiziert.

Das Kontrolltier zeigt wieder eine ausgedehnte Geschwulst, die etwa 11 Tage bis zur gänzlichen Rückbildung bestehen bleibt.

Rind I zeigt eine etwa kindskopfgroße, flache Schwellung an der Injektionsstelle, die nach 3 Tagen nicht mehr bemerkbar ist.

Rind II zeigt eine beträchtliche Schwellung (!), die allerdings wesentlich kleiner ist, als diejenige des Kontrolltieres, insbesondere sich viel rascher zurückbildet, die aber immerhin in die Unterbrust, die angrenzenden Partien der Schulter und die Ellbogengegend sich erstreckt.

Rind III weist nicht die geringste Schwellung auf, zeigt auch ein vollständig ungestörtes Allgemeinbefinden.

4) Um in Erfahrung zu bringen, ob der absoluten (und relativen) Serummenge im Gemisch für die Immunisierung eine Bedeutung zukommt, wurde ein weiterer Versuch an Rindern angestellt, in dem auch auf einen etwaigen Antitoxingehalt im Blute der Impflinge geprüft werden sollte. Leider ist der Versuch, der auch eine etwas andere Anordnung erhielt, in einer nicht ganz erwünschten Weise ausgefallen, woran wohl in erster Linie der Umstand die Schuld trägt, daß die Giftlösungen, welche anläßlich der Erprobung der Immunität verwendet wurden, an Wirksamkeit schon stark eingebüßt hatten.

Da infolge dessen größere Dosen angewendet werden mußten (und in solchen Fällen häufig, wie wir anläßlich der Toxinimmunisierungsversuche sahen, auch bei bereits immunisierten Tieren geringgradige Schwellungen auftreten), wurde der Unterschied im Verhalten der einzelnen Jungrinder etwas verwischt, anderseits trübte der weniger foudroyante Verlauf der Schwellungen beim Kontrolltier das Resultat in umgekehrter Richtung. Auch mußte eines der 3 Versuchsrinder (III), wegen eines nicht im Rahmen des Versuches stehenden phlegmonösen Prozesses, im Verlaufe des Versuches ausgeschieden werden.

3 Jungrinder erhalten je 20 *cm*³ einer $^1/_5$- bis $^1/_{10}$ Normalgiftlösung mit 0·5 *cm*³ (I), beziehungsweise 4 *cm*³ (II), beziehungsweise 20 *cm*³ (III) 400fachen Normalserums gemischt, hinter der linken Schulter injiziert. Gleichzeitig werden aus einer Schweifvene kleine Quantitäten Blut entzogen.

2 Tage darauf bekommt Rind I 20 *cm*³ 10facher Normalgiftlösung mit 0·5 *cm*³, Rind II 20 *cm*³ 10facher Normalgiftlösung mit 4·0 *cm*³ Serum, Rind III 20 *cm*³ 10facher Normalgiftlösung mit 20 *cm*³ Serum gemengt, injiziert. Keinerlei wahrnehmbare Reaktion. 14 Tage nach der zweiten Injektion wird den Rindern aus einer Schweifarterie wieder eine kleine Menge Blut entnommen, und gleichzeitig werden denselben — ebenso einem Kontrolltiere — je 20 *cm*³ einer etwa $^1/_{10}$ bis $^1/_2$ Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter injiziert. Alle Impflinge wiesen begrenzte Schwellungen an der Injektionsstelle auf, die sich voneinander nicht nennenswert unterschieden. Auch die Schwellung des Kontrolltieres war eine ziemlich geringfügige, reichte aber doch bis zum Ellbogen der injizierten Seite. Nach 48 Stunden war dieselbe bereits bedeutend kleiner geworden.

24 Stunden nach der Injektion wurden den Rindern I, II und dem Kontrolltier weiter je 40 *cm*³ einer zirka $^1/_5$ bis $^1/_{10}$ Normalgiftlösung hinter der rechten Schulter eingespritzt. Das Resultat war folgendes:

I zeigte eine ausschließlich auf die Impfstelle beschränkte, schmerzhafte, etwa handtellergroße Schwellung.

II zeigte eine unmerklich größere Schwellung als I.

Das Kontrolltier wies eine wesentlich größere Geschwulst als I und II auf. Dieselbe erstreckte sich in die Unterbrust und bezog auch die angrenzenden Partien der Flanke und Schultergegend ein. Triel frei. Während die Schwellung des Kontrolltieres in 72 Stunden den Höhepunkt erreichte und erst nach 7 Tagen gänzlich geschwunden war, waren bei Rind I

und II die Schwellungen nach 72 Stunden bereits vollständig zurückgegangen.

Die Titration des Serums von Rind I ergab die Anwesenheit von Antitoxin:

a) **Beiläufige Eichung des Serums von Rind I (vor der Behandlung)**

Meerschweinchenversuch:

1 cm^3 Serum +			
0·5 cm^3	0·1 cm^3	0·01 cm^3	0·005 cm^3
2 fach Normalgiftlösung			
tot in 24 Stunden	tot in 24 Stunden	tot in 24 Stunden	tot in 48 Stunden

b) **Beiläufige Eichung des Serums von Rind I (nach der Behandlung),** wobei gleichzeitig das vor der Behandlung gewonnene Serum verglichen wurde.

Meerschweinchenversuch:

Serum (vor der Behandlung)		Serum (nach der Behandlung)			
0·05 cm^3 Serum		0·01 cm^3 Ser.	0·05 cm^3 Ser.	0·2 cm^3 Ser.	0·5 cm^3 Ser.
+ 0·05 cm^3	+ 0·1 cm^3	+ 0·1 cm^3	+ 0·1 cm^3	+ 0·1 cm^3	+ 0·1 cm^3
$^1/_5$ Normalgiftlösung		$^1/_5$ Normalgiftlösung			
tot nach 4 Tagen	tot nach 3 Tagen	tot nach 2 Tagen	starke Schwellung mit mäßigen Hämorrh. lebt	mäßige Schwellung munter	geringe Schwellung

Während also das Serum (vor der Behandlung) in der Menge von 0·5 cm^3, 0·05 cm^3 $^1/_5$ Normalgiftlösung nicht neutralisierte, blieb das Meerschweinchen, das 0·05 cm^3 Serum (nach der Behandlung) und 0·1 cm^3 $^1/_5$ Normalgiftlösung bekommen hatte, am Leben.

Ein Versuch, in welchem das Serum der Rinder I, II und III (nach der Behandlung) hinsichtlich der Wirksamkeit verglichen wurde, ergab:

Meerschweinchenversuch:

0·02 cm^3 Normalgiftlösung +

	0·005 cm^3	0·02 cm^3	0·05 cm^3	0·1 cm^3	0·3 cm^3
Serum I	tot in 48 Stunden	tot in 60 Stunden	beträchtl. Schwellung	beträchtliche Schwellung	starke Schwellung
Serum II	tot in 60 Stunden	tot in 48 Stunden	tot in 60 Stunden	tot in 48 Stunden	starke Schwellung
Serum III	tot in 60 Stunden	tot in 60 Stunden	starke Schwellung	starke Schwellung	starke Schwellung

Versuche an Schafen.

1) 2 Schafe (I und II) erhalten je 5 cm^3 Normalgiftlösung + 0·5 cm^3 200faches Normalserum hinter der linken Schulter subkutan injiziert. Keine örtliche und allgemeine Reaktion. Nach 15 Tagen werden Schaf II wie einem Kontrolltier je 2 cm^3, Schaf I 5 cm^3 einer Normalgiftlösung einverleibt. Das Kontrolltier stirbt nach 48 Stunden, während Schaf II eine beträchtliche örtliche Schwellung zeigt, im übrigen aber gesund bleibt.

Ein interessantes Verhalten zeigte Schaf I. Etwa 50 Stunden nach der Injektion kollabierte das Tier plötzlich und stürzte unter heftigen Zuckungen zusammen. Während es den Anschein hatte, daß es sich um beginnende agonale Erscheinungen handle, erholte sich das Tier vorübergehend, wurde aber noch wochenlang zeitweilig von klonischen Krämpfen befallen, und lag dann wieder stundenlang regungslos auf einer Seite. Die Nahrungsaufnahme war während dieser Zeit häufig eine beträchtlich herabgesetzte, das Tier magerte stark ab und erlag schließlich der Probeinfektion mit rauschbrandigem Materiale (siehe unten).

2) 3 Schafe (2- bis 3jährig) (I, II, III) erhielten von einem Gemisch, bestehend aus 100 cm^3 10facher Normalgiftlösung und 3 cm^3 400fachen Normalserums 5, beziehungsweise 10 und 20 cm^3 subkutan injiziert. Einem vierten Schafe (IV) wurden 0·3 cm^3 400faches Normalserum (ohne Giftlösung) einverleibt. Keine Reaktion. Nach 9 Tagen wurden den Schafen I, II, III, ebenso einem Kontrollschaf je 0·5 cm^3, einem zweiten Kontrollschaf und Schaf IV je 0·2 cm^3 einer 10fachen Normalgiftlösung injiziert. Resultat: Die 3 mit Gemischen vorbehandelten Tiere zeigten nicht die geringsten Schwellungen und reagierten auch in ihrem Allgemeinbefinden gar nicht auf die Injektion. Das mit Serum vorbehandelte Schaf akquirierte eine beträchtliche örtliche Schwellung, die sich bis in den Triel erstreckte und mit Hämorrhagien in der Haut verbunden war. Von den 2 Kontrollschafen starb das mit 0·5 cm^3 Giftlösung behandelte nach 48 Stunden unter typischen Erscheinungen, während das zweite (0·2 cm^3 Giftlösung) eine ausgedehnte, mit schweren Hämorrhagien verbundene Schwellung aufwies,

2 Tage schwer krank war und erst nach 4 Tagen sich erholte. 4 Tage nach der letzten Injektion wurden weiters sämtlichen Versuchstieren je 3 cm^3 10fache Normalgiftlösung injiziert. Resultat: Die Schafe I. II, III reagierten wieder in keiner Weise, während das Kontrollschaf nach 18 Stunden typisch verendete, das mit Serum vorbehandelte Tier (IV) eine kolossale, über die ganze Körperhälfte sich erstreckende Schwellung aufwies, kaum sich fortbewegen konnte und einen Tag das Futter verweigerte. Der Versuch ergab demnach eine hochgradige Unempfindlichkeit der 3 mit Serum-Toxingemischen vorbehandelten Schafe gegenüber dem Toxin. Überdies ist zu ersehen, daß das wirksame Prinzip des Gemisches nicht im Serumzusatz an sich gelegen ist.

d) Sonstiges Verhalten der Serum-Toxingemische.

1) Von einer Normalgiftlösung werden 100 cm^3 mit 0·1 cm^3 200fachen Normalserums versetzt. Die genaue Titrierung derselben ergab als zur Neutralisation eben ausreichende Menge eine solche von 0·4 cm^3 des Serums.

Das Gemisch von der erwähnten Zusammensetzung, in welchem demnach nur $^1/_4$ des Giftes neutralisiert war, wurde ebenso, wie die Giftlösung für sich allein, durch 17 Tage im Kühlschranke aufbewahrt.

Die Giftigkeitsbestimmung nach dieser Zeit ergab:

Meerschweinchenversuch:

a) Wertigkeit der Giftlösung:

0·05 cm^3 . . . . . . Starke Schwellung, keine Hämorrhagien;
0·1 cm^3 . . . . . . sehr starke Schwellung, Hämorrhagien;
0·2 cm^3 . . . . . . tot nach 72 Stunden;
0·3 cm^3 . . . . . . tot nach 72 Stunden.

b) Wertigkeit des Gemisches:

0·13 cm^3 . . . . . . glatt, Tier völlig munter;
1·0 cm^3 . . . . . . Infiltrat, das in 4 Tagen zurückgeht.

Dieser Versuch ergibt demnach, daß in diesem Falle das Gift in der Giftlösung (ohne Serumzusatz) besser konserviert wurde als das in der nicht ausreichend neutralisierten Giftlösung unmittelbar nach dem Mischen als frei nachweisbare.

2) Das in Versuch 1 verwendete Gemisch wird nach 10tägiger Aufbewahrung 1 Stunde auf 60° C. erwärmt. 1 cm^3 der erwärmten Lösung ist für ein Meerschweinchen gänzlich inoffensiv. 1 cm^3 der erwärmten Lösung wird nach dem Abkühlen mit 0·05 cm^3 einer Normalgiftlösung versetzt und das Gemisch einem Meerschweinchen injiziert. Das Tier blieb vollständig munter. An der Injektionsstelle entstand nur eine ganz geringe Schwellung.

Es wird demnach beim Erwärmen eines Gift-Serumgemisches Antitoxin frei (in diesem Falle mindestens $^1/_4$ der gebundenen Serummenge entsprechend).

3) Zu 2 cm^3 des gleichen Gemisches, nicht erwärmt, werden 0·05 cm^3 einer (zirka) $^1/_5$ Normalgiftlösung hinzugefügt. Das Gemisch ruft bei einem Meerschweinchen schwere Krankheitserscheinungen, Schwellung mit Hämorrhagien etc. hervor, das Tier erholt sich aber und bleibt am Leben. 0·05 cm^3 derselben Giftlösung töten ein Meerschweinchen in 3 Tagen.

2 cm^3 des Gemisches, 1 Stunde auf 60° C. erwärmt, + 0·05 cm^3 derselben Giftlösung rufen bei einem Meerschweinchen keine Schwellung hervor, auch der Zusatz von 0·1 cm^3 der Giftlösung zu 2 cm^3 erwärmten Gemisches vermag dieses nicht giftig zu machen.

4) Dasselbe Gemenge wird nach 4 wöchentlichem Lagern neuerlich untersucht.

1 cm^3 ruft bei einem Meerschweinchen nur ein leichtes Infiltrat hervor, Tier munter.

1 cm^3 + 0·003 cm^3 einer 20fachen Normalgiftlösung, Tier stirbt in 24 Stunden.

0·003 cm^3 der 20fachen Normalgiftlösung allein, Tier stirbt in 24 Stunden.

Das Gemisch wird 1 Stunde auf 60 bis 65° C. erwärmt. Hiervon:

1 cm^3 + 0·0005 cm^3 20fache Normalgiftlösung — glatt.
1 cm^3 + 0·01 cm^3 „ „ — tot in 48 Stunden.
1 cm^3 + 0·05 cm^3 „ „ — tot in 48 Stunden.

In diesem Falle wurde durch das Erhitzen gleichfalls Antitoxin frei.

Es wird in weiteren Versuchen festzustellen sein, wie sich die frisch bereiteten Serum-Toxingemische beim Erwärmen verhalten.

e) Verhalten des Serums bei der Dialyse und beim Eintrocknen.

1) 20 cm^3 eines 400fachen Normalserums werden in einem Pergamentschlauche der Dialyse gegen destilliertes Wasser, das täglich gewechselt wird, unterworfen.

Nach 4 Tagen wird eine Probe mit Hilfe einer sterilen Pipette entnommen. Dieselbe ist von Eiweißflocken durchsetzt, chlorfrei. Das Serum hatte an Volumen deutlich zugenommen. Die Prüfung mittels einer 20fachen Normalgiftlösung ergab eine fast unverminderte Wirksamkeit des dialysierten Serums:

Meerschweinchenversuch:

1 cm^3 20fache Normalgiftlösung + 0·3 cm^3 dialysiertes Serum — glatt.
1 cm^3 „ „ + 0·1 cm^3 „ „ — „

Nach weiteren 6 Tagen wird die Dialyse unterbrochen. Der Inhalt des Schlauches beträgt 50 cm^3.

Meerschweinchenversuch:

1 cm^3 2fache Normalgiftlösung + 0·02 cm^3 dialysiertes Serum — glatt.
1 cm^3 „ „ + 0·04 cm^3 „ „ — „

2) Eine kleine Portion 200faches Normalserum wird im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure eingetrocknet und im trockenen Zustande aufbewahrt. Nach 2 Jahren wird der Rückstand durch Zusatz von Wasser gelöst und auf das ursprüngliche Gewicht gebracht. Die Wirksamkeit der Lösung, verglichen mit dem flüssig aufbewahrten Serum derselben Provenienz, war nur eine wenig schwächere.

Meerschweinchenversuch:

1 *cm*³ Normalgiftlösung +			
0·02 *cm*³ (flüss. Ser.)	0·02 *cm*³ (trock. Ser.)	0·05 *cm*³ (flüss. Ser.)	0·05 *cm*³ (trock. Ser.)
glatt	starke Schwellung mit Hämorrhagien, Tier erholt sich aber.	glatt	glatt

C. Die Schutzwirkung von Gift- und Seruminjektionen gegenüber der Rauschbrandinfektion.

So wichtig auch der Nachweis war, daß sowohl durch wiederholte Einverleibung bakterienfreier Rauschbrandgiftlösungen, als auch durch Injektion von Serum Giftfestigung erzielt werden kann, so wertvoll der Fortschritt schien, der in der Verwendung von Gift-Serumgemischen zur Immunisierung der Versuchstiere lag, so war das Hauptinteresse doch der Frage zugewendet, wie sich die giftgeschützten Tiere gegenüber einer künstlichen Infektion mit Rauschbrandvirus verhielten. Anhaltspunkte in den bisherigen Arbeiten der Literatur, die für den Gegenstand bedeutungsvoll hätten sein können, liegen nicht vor, da fast alle Versuche, bei Tieren Rauschbrandimmunität zu erzeugen, bisher davon ihren Ausgangspunkt genommen hatten, entweder durch ein Serum, das durch Injektion von Kulturen oder rauschbrandiger Ödemflüssigkeit, meist von wenig empfänglichen Tieren (Ziege, Kaninchen, auch Meerschweinchen) gewonnen war, die Versuchstiere zu schützen oder denselben abgeschwächte Kulturen, beziehungsweise abgeschwächtes rauschbrandiges Material (das Abschwächen geschah durch Erhitzen, Lagern oder durch gleichzeitige Injektion eines prä-

ventiven Serums) einzuverleiben, wodurch sie gegen die vollvirulenten Infektionserreger resistent gemacht wurden.

Roux konnte durch wiederholte Injektionen sehr hoher Dosen (bis zu 40 *cm*³) der durch Hitze sterilisierten oder filtrierten Kulturflüssigkeiten bei Meerschweinchen Schutz vor der Rauschbrandinfektion erzielen. Doch handelte es sich in diesem Falle nicht um die Wirkung von Giften, und es kann hiermit in Übereinstimmung gebracht werden, daß, wie Duenschmann behauptet, Meerschweinchen, die Rauschbrandgifterkrankungen überstanden haben, gegen den Infektionsprozeß keineswegs geschützt sind.

Wir können daher an dieser Stelle von einer ausführlicheren Besprechung der bisher üblichen Immunisierungsverfahren gegen die Rauschbrandinfektion Abstand nehmen, besonders da beim Kapitel über die Rauschbrandschutzimpfung (siehe Anhang) die in der Praxis geübten Schutzimpfungsverfahren, ebenso die von verschiedenen Autoren hierzu erstatteten Vorschläge kurz angeführt werden sollen. Vielleicht ergibt sich später auch noch einmal Gelegenheit, eigenen Versuchen eine eingehendere Kritik der vorliegenden Experimente anzugliedern.

Erwägt man, inwieweit von vornherein die Wahrscheinlichkeit vorhanden ist, daß ein giftfestes Tier der Infektion mit Rauschbrandvirus widersteht, und bezieht man die Beobachtungen über das Wechselverhältnis von Intoxikation und Infektion im allgemeinen hier ein, so wäre in erster Linie des Umstandes zu gedenken, daß bei einer Reihe von experimentell hervorzurufenden Krankheitsprozessen durch Giftschutz gleichzeitig Infektionsschutz verliehen wird. Allerdings liegen gerade bei den zwei am besten gekannten der hierher gehörigen Infektionen, dem Tetanus und der Diphtherie, die Verhältnisse für eine experimentelle Klärung der Frage nicht sehr günstig, da die Erreger derselben im Körper der Versuchstiere zu keiner üppigeren Vermehrung gelangen.

Anderseits ist bekannt, daß in vielen Fällen Tiere, die von Haus aus refraktär oder künstlich gegen den Infektionsprozeß geschützt sind, der spezifischen Giftwirkung erliegen können.

Während nun in Bezug auf letzteren Punkt (die Giftempfindlichkeit natürlich unempfindlicher, oder künstlich gegen den Infektionsprozeß geschützter Tiere) durch unsere an

Tauben und Hühnern angestellten Versuche, durch die an Kaninchen gewonnenen Erfahrungen, ebenso durch die Untersuchungen der französischen Autoren an infektionsfest gemachten Tieren gezeigt wird, daß beim Rauschbrand, ähnlich wie in den bisher beobachteten Fällen, Infektionsschutz ohne Giftschutz vorhanden sein kann, standen der Lösung der Frage, ob die Rauschbrandgiftfestigung einen Schutz gegenüber der künstlichen Rauschbrandinfektion verleiht, besondere Schwierigkeiten entgegen, wenigstens soweit das Verhalten des aktiv immunisierten Tieres in Betracht kommt. Der Grund hierfür ist in erster Linie darin zu suchen, daß die zwei gangbarsten Laboratoriumstiere, Meerschweinchen und Kaninchen, für die einschlägigen Experimente nicht verwendbar sind, das eine, weil es nicht giftfest gemacht werden konnte, das andere, weil es der künstlichen Rauschbrandinfektion gegenüber zu resistent ist.

Hingegen kamen wir hinsichtlich der Bedeutung des passiven Giftschutzes für die Resistenz gegenüber der Infektion, zu sehr befriedigenden, klaren Resultaten, wenigstens soweit es sich um das Meerschweinchen handelt. Wir vermochten ferner, auf Grund des spezifischen Schutzes, den antitoxisches Rauschbrandserum gegen Rauschbrandkulturen verleiht, eine einfache und verläßliche Differentialdiagnose des Rauschbrandbazillus gegenüber anderen morphologisch-biologisch verwandten Bakterien herbeizuführen.

a) Wirkungsweise ein- und mehrmaliger Toxininjektionen und Injektionen von Serum-Toxingemischen.

Versuche an Meerschweinchen.

Obwohl Meerschweinchen weder durch Toxininjektionen noch durch Einverleibung von Serum-Toxingemischen giftfest gemacht werden konnten, somit die Voraussetzung für die Anstellung der vorliegenden Experimente eigentlich fehlte, wurde trotzdem bei einer größeren Anzahl von Meerschweinchen, welche auf die verschiedenste Weise mit Giftlösungen oder Gift-Serumgemischen vorbehandelt waren, auf Vorhandensein von Infektionsschutz geprüft. Das Experiment in Ehren. Allerdings entsprach das Resultat der mühsamen Versuche ganz den Erwartungen. Weder einmalige noch wiederholte Behandlung mit Giftlösungen oder Serum-Toxingemischen die in

wechselnden Verhältnissen Serum und Toxin enthielten), noch Einverleibung erwärmter oder gelagerter Giftlösungen ließen irgend einen Einfluß auf den Ablauf des nachmaligen Infektionsprozesses erkennen. Fast das Gegenteil traf ein, indem eine wiederholte Behandlung mit Giftlösungen eher die Empfänglichkeit der Tiere für die Infektion steigerte.

Was den Infektionsmodus betrifft, so wäre hervorzuheben, daß es im allgemeinen ziemlich leicht gelingt, Meerschweinchen rauschbrandkrank zu machen; immerhin ist auf einige Kautelen aufmerksam zu machen, die wir von keinem der Autoren bisher entsprechend beachtet oder wenigstens angeführt finden. Infektion mit Trockenmateriale mißlingt vielfach, selbst bei scheinbar bester Auswahl desselben; es scheint, wie wenn das Auskeimen der getrockneten Sporen nicht in jedem Tier gleich leicht erfolgte. Wir infizierten daher unsere Tiere vorwiegend entweder mit Muskel-Zuckerbouillonkulturen oder — und dies in weitaus den häufigsten Fällen — mit der aus einem frischen Rauschbrand-Meerschweinchenkadaver stammenden Ödemflüssigkeit. Es verdient indes Erwähnung, daß auch bei dieser Art der Infektion sehr häufig große Tiere, wenn nicht große Dosen angewendet wurden, refraktär waren. Das beste Material zu Infektionsversuchen sind zweifellos kleine oder mittelgroße Tiere, für welche als sicher tödliche Dosis in unseren Versuchen zirka 0·01 bis 0·03 *cm*³ (= $^1/_3$ bis 1 gtt.) Saft verwendet wurden.

Versuche an Rindern.

Von größtem Interesse war es, zu erproben, wie sich Giftschutz und Infektionsschutz zueinander beim Rind verhalten.

Leider wurden wir in unseren Hoffnungen auf eine prompte Entscheidung der Frage enttäuscht, da sich wegen der wechselnden individuellen Empfänglichkeit des Jungrindes die Experimente nicht verläßlich genug anstellen ließen — und die Kontrolltiere, selbst bei mittleren Dosen des Infektionsmateriales, gelegentlich am Leben blieben. Durch einen bösen Zufall geschah dies gerade in einem umfangreichen, sonst ganz einwandfreien Versuche.[1])

---

[1]) Als Infektionsmaterial wurde stets die Ödemflüssigkeit eines frisch an Rauschbrand verendeten Meerschweinchens, in der Dosis von 3 bis

Das Vorkommen solcher Ereignisse muß aber auch für die Zukunft den Wert von sogenannten „überzeugenden" Experimenten an wenigen Tieren herabdrücken, und es müßten ganz enorme Versuchsreihen dieser kostspieligen Versuchstiere zur Verfügung stehen, damit die Resultate als einwandfrei gelten könnten und brauchbar wären. Hier tritt zweifellos der Versuch in der Praxis — die Erprobung der Immunität gegen den Weiderauschbrand — in seine Rechte, zumal wenn es gelingt, die Immunisierung gegen das Gift völlig ungefährlich zu gestalten. Hiervon später.

Wir waren gegenüber dem freimütigen Geständnisse von Kitt, daß unter den Jungrindern die Empfänglichkeit gegenüber der subkutanen Infektion mit Rauschbrand sehr verschieden sei, und sich dieses Tier für Laboratoriumsversuche daher nicht besonders eigne, erstaunt, wie gleichmäßig die Resultate in den Versuchen der französischen Autoren Thomas, Cornevin und Arloing zutage traten.

Eigene Erfahrungen über die Schutzwirkung des von den Autoren geübten Verfahrens (siehe später) festigten aber in uns die Überzeugung, daß auch in diesem Falle die geringe Ausdehnung der Versuche, speziell die Vernachlässigung eines ausgedehnten Kontrollexperimentes, die günstigen und gleichmäßigen Resultate vortäuschte.

Soweit sich bei der Unsicherheit der Grundlagen — mit aller Vorsicht — Schlüsse ziehen lassen, ergeben unsere Versuche folgendes.

Injektionen von kleineren Dosen Giftlösung (5 bis 20 cm^3 Normalgiftlösung — in 2 Portionen injiziert) scheinen völlig wirkungslos zu sein. Es trat in diesen Fällen der Tod der Rinder an Impfrauschbrand ein, wenn die Tiere eine bis mehrere Wochen nach der zweiten Injektion in den Versuch gestellt wurden. Die auf solche Weise vorbehandelten 7 Tiere gingen in der-

---

18 Tropfen verwendet, und die Injektion der mit Kochsalzlösung verdünnten Flüssigkeit entweder in der Hungergrube oder seitlich am Halse, oder hinter der Schulter vorgenommen. Besonders die seitliche Halsgegend eignet sich gut als Injektionsstelle, da sich hier am leichtesten graduelle Unterschiede hinsichtlich der Ausdehnung des Prozesses und der Raschheit seines Auftretens erkennen ließen.

selben Zeit zugrunde, wie die Kontrolltiere, sie zeigten denselben Sektionsbefund.

Was die Wirkung der Injektionen größerer Dosen Giftlösung (50 bis 80 cm^3 Normalgiftlösung) betrifft, so schien uns im Verlaufe der Experimente, daß dieselben imstande seien, Rinder verläßlich gegen die künstliche Infektion mit Rauschbrandsaft zu immunisieren. Doch belehrten uns bald die Ergebnisse eines weiteren größeren Versuches, daß auch diese Annahme nicht unbedingt zutrifft. Bei dieser Versuchsreihe erkrankten zwei in den Versuch gestellte, nicht vorbehandelte Kontrolltiere nicht, während ein Jungrind, dem 73 cm^3 Normal-, beziehungsweise Zweifach-Normalgiftlösung injiziert worden waren, an den typischen Erscheinungen eines rasch verlaufenden Impfrauschbrandes zugrunde ging. (Sieben ähnlich oder gleich behandelte Tiere blieben allerdings verschont.)

Der Fall ist um so bemerkenswerter, als das Tier bereits eine nicht unwesentliche Giftfestigkeit besaß, und in seinem Blute beträchtliche Mengen antitoxischer Substanz nachgewiesen werden konnten. Bei einer annähernden Bestimmung der Wertigkeit des Serums zeigte sich, daß dieses den Wert eines 40fachen Normalserums hatte. Es kann demnach nicht bezweifelt werden, daß unter Umständen beim Rind selbst ein ziemlich weitgehender Giftschutz keinen Schutz vor der künstlichen Rauschbrandinfektion bewirkt.

Trotz dieses Ausnahmsfalles — so müssen wir ihn wohl bezeichnen — wären wir geneigt, die Schutzkraft wiederholter Injektionen von Giftlösung — auch gegen die künstliche Infektion — nicht ohne weiteres in Abrede zu stellen.

Wir glauben, abgesehen von den Experimenten mit günstigem Ausgang, noch in einer anderen Beobachtung — so paradox es vielleicht von vornherein erscheinen mag — einen Anhaltspunkt für diese Auffassung zu besitzen. Unter 34 Jungrindern, deren Infektion wir entweder selbst vornahmen (29 Stück) oder wenigstens in ihrem Verlaufe verfolgen konnten, wiesen nämlich 4, mit größeren Dosen Giftlösung behandelte Tiere im Anschluß an die Impfung mit Rauschbrandmaterial an der Injektionsstelle Prozesse auf, die über das Maß einer einfachen reaktiven Veränderung hinausgehend, zu ziemlich beträchtlichen, stets wohl umschriebenen Schwellungen führten und nach allem zweifellos

als lokaler Rauschbrand, mitigiert durch einen partiellen Impfschutz, aufgefaßt werden mußten. Derartiges sahen wir niemals an Kontrolltieren oder solchen Rindern, die nur mit wenig Giftlösung vorbehandelt waren. Wohl aber konnten wir die gleiche Erscheinung — Entstehung eines lokalen, in Heilung übergehenden Rauschbrandes — bei Tieren (s. unten) beobachten, die nach dem Lyoner Verfahren vorbehandelt waren.

Wir haben einmal versucht, zwei Jungrinder mit erwärmten Giftlösungen gegen den Impfrauschbrand zu immunisieren; es ist uns dies nicht gelungen. Ebensowenig widerstanden Jungrinder, die mit Rauschbrandkulturen mehrmals behandelt waren, der Infektion mit vollvirulentem Materiale. Diese Versuche, deren Einzelheiten in den Protokollauszügen zu sehen sind, sollten sich an analoge in der Literatur vorliegende Experimente anlehnen, die von Kitt und anderen Autoren angestellt wurden und nach diesen zu einer Immunisierung der Jungrinder führten.

Jene Jungrinder, die mit Toxin-Serumgemischen vorbehandelt waren, und die infolgedessen giftunempfindlich wurden, wurden einer Probeinfektion nicht unterzogen, da wir aus den oben angeführten Gründen bei der kleinen Anzahl der Rinder auf ein verwertbares Resultat nicht rechnen konnten.

Versuche an Schafen.

Da Kitt und andere Autoren das Schaf als das für den Impfrauschbrand empfänglichste Versuchstier erklärten, das ganz gleichmäßig sicher mit minimalen Mengen Rauschbrandsaft ($^1/_{20}$ gtt.) zu infizieren sei, hofften wir durch Ausdehnung unserer Versuche auf diese Tiergattung zu verläßlicheren Resultaten zu kommen, als dies für die Jungrinder der Fall war, besonders da auch die Giftfestigung beim Schafe in so eklatanter Weise zutage trat. Leider ergab sich aus den Experimenten, daß bei dieser Tierspezies gleichfalls die individuelle Empfänglichkeit innerhalb weiter Grenzen schwankt. Es ereigneten sich ähnliche Zufälle, wie in den Rinderversuchen, indem z. B. gelegentlich Kontrolltiere, die in exakter Weise mit virulentem Rauschbrandsaft infiziert wurden, nicht erkrankten. Weiterhin belehrten uns die Versuche, daß bei der Infektion

(nicht in den Versuchen über die Toxinempfindlichkeit!) das Alter der Tiere anscheinend eine Rolle spielt, worauf anfangs zu wenig gesehen wurde.

Kleinere und mittlere Dosen der Giftlösung, für sich allein injiziert oder mit Serum in entsprechendem Verhältnis gemischt, führten in unseren Versuchen, genau so wie bei Rindern, keinen Impfschutz, höchstens eine Verzögerung im Krankheitsverlaufe herbei.[1])

Hingegen schien uns das Überstehen größerer Giftmengen (frei und im Gemische) wieder deutlich gegen den Impfrauschbrand zu schützen. Allerdings war der ausgedehnte Versuch, der sonst hierfür sprach, dadurch getrübt, daß zwei 3- bis 4jährige Schafe, die infolge Mangels an anderem Material als Kontrolltiere benutzt werden mußten, trotz Infektion mit hohen Dosen Rauschbrandsaft gesund blieben.

In demselben Versuche ging unter neun verschieden vorbehandelten Tieren, die sämtlich mit Rauschbrandsaft infiziert wurden, ein Schaf, das 10 cm^3 10facher Normalgiftlösung + 0·3 cm^3 400fachen Normalserums erhalten hatte, somit in gewissem Grade giftfest sein mußte, unter foudroyanten Erscheinungen an Impfrauschbrand zugrunde. Es bewahrt demnach auch bei Schafen ein zweifellos weitgehender Giftschutz nicht in allen Fällen vor der künstlichen Rauschbrandinfektion. In dem genannten Versuche blieben acht Tiere am Leben, nur zwei zeigten lokale Prozesse, die als mitigierter, in Heilung übergehender Impfrauschbrand imponierten.

b) Wirkungsweise der Seruminjektionen.

Für die Beantwortung der Frage, ob dem antitoxischen Serum auch antiinfektiöse Eigenschaften zukommen, dienten uns hauptsächlich Meerschweinchen als Versuchstiere, deren (bei gewissen Kautelen, siehe oben) gleichmäßige Empfänglich-

---

[1]) Bei Durchsicht der Literatur kommt man zur Überzeugung, daß so manches einsame Schaf, das der betreffende Forscher vermeintlich immunisierte (wie z. B. das von Kitt mit einer einmaligen (!) Injektion einer dekantierten, anscheinend ungiftigen (!) Rauschbrandbouillonkultur behandelte, wodurch ein Immunisierungseffekt unmöglich herbeigeführt werden konnte) natürlich unempfindlich oder unterempfindlich war.

keit für den Rauschbrand die Experimente in willkommener Weise erleichterte. Wir mischten einerseits Serum mit Kulturen, beziehungsweise mit Rauschbrandsaft, und prüften das Gemenge auf seine Fähigkeit, Infektion zu erregen, anderseits ermittelten wir den Effekt präventiver Seruminjektionen, indem wir den Tieren kleine Quantitäten Serums subkutan oder intraperitoneal einspritzten, und 24 bis 48 Stunden später subkutane Einverleibung von Rauschbrandmateriale nachfolgen ließen.

Diese beiden Versuchsreihen sind gesondert zu betrachten.

Zunächst ergibt sich ein Unterschied in der Wirkung der Gemische, je nachdem man Ödemflüssigkeit oder Kulturen mit Serum mengt. Besteht das Gemisch aus Serum und Kultur, so ist es, soferne nur genügend Serum zur Neutralisation der giftigen Substanzen (der in der Kulturflüssigkeit befindlichen gelösten und der an den Leibern haftenden Gifte) mitinjiziert wird, in der Regel gänzlich inoffensiv. Ja, wenn ein beträchtlicher Überschuß von Serum verwendet wurde, war niemals eine Erkrankung der Tiere zu beobachten.

Anders war das Resultat, wenn rauschbrandiger Saft mit Serum gemengt wurde. In solchen Fällen vermochten oft selbst große Dosen von Serum die Tiere vor der tödlichen Infektion nicht zu retten, wenn auch anderseits gelegentlich verhältnismäßig kleine Serummengen hierzu ausreichend waren.

Für den verschiedenen Ausfall des Experiments, je nachdem Kultur oder Ödemflüssigkeit verwendet wurde, wird die Erklärung wohl zunächst darin zu suchen sein, daß die im Tier angewachsenen Generationen eine erhöhte „Virulenz" besitzen, und die Immunisierung — denn als solche ist ja die Wirkung des Serums im Gemisch wohl aufzufassen — gegen die Kulturen (Bouillon - Muskelzuckerbouillon - Kulturen) sich daher leichter vollzieht. Eine solche höhere Virulenz der Ödemflüssigkeit besteht zweifellos, wenn sie auch nur dann klar in Erscheinung tritt, wenn im Tierexperimente wenig Kulturflüssigkeit oder ungiftige Kulturen mit der Ödemflüssigkeit (Saft) verglichen werden. Erprobt man stark giftige Kulturen, sind oft noch Bruchteile eines Tropfens hochpathogen. In einem solchen Falle spielt aber die Giftwirkung, die dem Anwachsen der Mikrobien den Boden präpariert, die ent-

scheidende Rolle. Es sei hier nur an den Effekt ungenügend filtrierter Giftlösungen erinnert, die gelegentlich zu einer Infektion der Rinder führten.

Die Annahme, daß die Serum-Saftgemische deshalb in den meisten Fällen die Versuchstiere töteten, weil das Antitoxin des Serums nur die Kulturgifte, nicht aber die „anders gearteten" Gifte der im Tier angewachsenen Generationen zu neutralisieren vermag, ist schon deshalb wenig plausibel, weil doch gelegentlich Ausnahmen beobachtet wurden, sie wird aber durch die Versuche mit präventiven Seruminjektionen direkt widerlegt. Diese ergaben nämlich, daß bei richtig gewählter Dosis des Serums die Meerschweinchen regelmäßig auch gegen die Einverleibung rauschbrandiger Ödemflüssigkeit geschützt werden können. Freilich muß die Dosis wesentlich höher genommen werden als für den präventiven Schutz gegen Kulturen, oder als für die Aufhebung der tödlichen Wirkung einverleibter Giftlösungen nötig ist. Immerhin schützte 1 cm^3 des 400fachen Normal-Rauschbrandserums, intraperitoneal injiziert, verläßlich gegen eine 24 bis 48 Stunden später erfolgende Infektion mit $^1/_2$ gtt. Rauschbrandödemflüssigkeit, während vielfache Mengen von Serum normaler Rinder hinsichtlich des Eintritts und Ablaufs der Infektion in den meisten Versuchen vollständig indifferent waren. Unser antitoxisches Serum schützt also, präventiv injiziert, gegen die nachfolgende Injektion mit Rauschbrandsaft in gleichem Maße wie die „antiinfektiösen" Sera der französischen Autoren.

Die Möglichkeit, durch präventive Injektionen eines antitoxischen Serums Meerschweinchen verläßlich gegen die Rauschbrandinfektion zu immunisieren, scheint uns für die Frage nach der Schutzkraft wiederholter Toxininjektionen (Rinder) bedeutungsvoll zu sein. Es wäre schwer verständlich, daß ein Tier, das giftfest gemacht ist und ein Serum liefert, das andere Tiere vor der Rauschbrandinfektion bewahrt, selbst in keiner Weise vor dieser geschützt wäre.

Wir werden daher durch den günstigen Ausfall dieser Versuche in unserer Ansicht bestärkt, daß der erlangte Giftschutz hinsichtlich einer Festigung der Rinder gegenüber der Rauschbrandinfektion nicht bedeutungslos sein kann.

Die Schutzkraft des Serums in den Meerschweinchenversuchen war nicht von langer Dauer, indem eine nach 2 Wochen neuerlich vorgenommene Infektion mit Rauschbrandsaft bei allen Tieren einen tödlichen Verlauf nahm.

Daraus ging weiter hervor, daß Injektionen von rauschbrandigem Materiale an und für sich, soferne es nicht zur Entwicklung der Keime im Körper des behandelten Tieres kommt, zu keiner Immunität führen. Ebensowenig waren die mit Serum-Kulturgemischen behandelten Meerschweinchen bei nachmaliger Infektion gefeit.

Auch Versuche an Rindern hatten ja, wie schon erwähnt, ergeben, daß selbst wiederholte Injektionen von Kulturen keineswegs im angegebenen Sinne immunisierend wirken. Zum Entstehen der Immunität in unserem Falle gehört wohl zweifellos die Bildung von Giften und eine Reaktion des Körpers, bei welcher Antitoxin entsteht.[1])

An Rindern haben wir bisher Immunisierungsversuche mit Serum allein nicht gemacht, an Schafen haben wir wohl einige Experimente angestellt, doch dünken uns dieselben aus den schon oben angeführten Gründen zu spärlich zu sein, um verwendet werden zu können. Die Protokollauszüge sind übrigens angeschlossen.

Es konnte aus der Schutzwirkung, die Seruminjektionen bei Meerschweinchen hervorrufen, noch eine wichtige Nutzanwendung für die Veterinärpraxis abgeleitet werden. Allgemein gilt die Unterscheidung von Wundbrand (malignes Ödem, Gasphlegmone) und Rauschbrand als nicht leicht. Wenngleich die Erreger dieser Infektionskrankheiten eine Reihe konstanter Merkmale, wenigstens bei genauerem Studium, aufweisen, ist doch ohne weiteres zuzugeben, daß die meisten der einschlägigen Methoden nur von geübten Bakteriologen ausgeführt werden

---

[1]) Wir wollen nicht unterlassen, den Leser nochmals darauf aufmerksam zu machen, daß wir in dem ganzen vorstehenden Abschnitt, wenn wir von Immunisierung sprechen, den Schutz gegen subkutan appliziertes, hochvirulentes Materiale im Auge haben. Da es sich ja hier um exakte Laboratoriumsexperimente handelt, konnte selbstverständlich auf einen gewiß unter manchen der angegebenen Verhältnisse auftretenden Schutz gegenüber wenig virulentem Materiale oder gegenüber einer anderen Art der Applikation keine Rücksicht genommen werden.

können und den Praktikern[1]) durchschnittlich recht wenig nützen.

Bekanntlich ist schon von Kitasato, Duenschmann, Leclainche und Vallée die Differentialdiagnose zwischen Rauschbrand und malignem Ödem mittels spezifischen Serums versucht worden. Während aber Duenschmann fand, daß sein Rauschbrandserum auch gegen malignes Ödem schützte, kamen Kitasato wie Leclainche und Vallée zum Resultate, daß mit Rauschbrandserum vorbehandelte Tiere regelmäßig dem malignen Ödem erliegen. Leclainche meint, daß Duenschmann mit Mischkulturen gearbeitet hat, und erklärt dies durch das regelmäßig erfolgende Einwandern von Ödembazillen aus dem Darm in die Organe des Kadavers, so daß nur selten und nur im ganz frischen Zustande die Muskeln des rauschbrandigen Tieres hiervon frei seien. Er selbst schützte sich vor solchen Irrtümern, indem er das Material durch Kaninchenpassage auf seine Reinheit prüfte; so lange Kaninchen daran zugrunde gingen, galt ihm der Infektionsstoff noch als verunreinigt. Wir können diesem Versuche eine Beweiskraft nicht zuerkennen, da Kitt und v. Hibler gezeigt haben, daß nicht regelmäßig Kaninchen für die Infektion mit malignem Ödem empfänglich sind, und anderseits auch verläßliche Rauschbrandreinkulturen gelegentlich diese Tiere töten. Weiters können wir auch Leclainche nicht zustimmen, wenn er von der regelmäßigen Verunreinigung des rauschbrandigen Materiales durch Ödembazillen spricht Nach eingehender Bekanntschaft mit den Bazillen aus dieser Gruppe haben wir uns überzeugt, daß die Verunreinigung von Rauschbrandmaterial mit Ödembazillen gewiß nicht häufig ist.

Wir besitzen nun in der Ausführung der Serumreaktion ein verläßliches Verfahren, Rauschbrand und malignes Ödem voneinander zu unterscheiden, da, wie wir in zahlreichen Versuchen nachweisen konnten, die Ödembazillen nicht im geringsten von unserem antitoxischen Serum beeinflußt werden. Wir haben Meerschweinchen bis zu 15 cm^3 desselben intraperitoneal injiziert und die Infektion der Tiere nach 24 bis 48 Stunden mit minimalen Mengen Ödemflüssigkeit

[1]) Wir sehen hier von jenen Praktikern ab, die aus dem mikroskopischen Präparate „auf den ersten Blick" die Diagnose treffen.

($^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$ gtt.) vorgenommen. Stets erlagen die Tiere in derselben Zeit und unter denselben Erscheinungen, wie nicht vorbehandelte Meerschweinchen.

Protokollauszüge.

A. Die Wirkungsweise von Toxininjektionen und Injektionen von Serum-Toxingemischen.

Versuche an Meerschweinchen.

1) 4 Meerschweinchen erhalten je 0·005 cm^3 einer (zirka) Normalgiftlösung subkutan injiziert. Beträchtliches Infiltrat mit Hämorrhagien. Ein Tier verendet nach 5 Tagen, die andern erholen sich. 11 Tage nachher werden die überlebenden 3 Tiere mit je 1 Tropfen Rauschbrandsaft (Rauschbrandstamm aus Niederösterreich) infiziert. Alle Tiere verenden nach 24 bis 48 Stunden

2) 3 Meerschweinchen erhalten je 5 Injektionen von 0·005, beziehungsweise 0·001, 0·002, 0·01 cm^3 verschiedener, zirka $^1/_3$ bis $^1/_2$ Normalgiftlösungen. Nachdem die bei der letzten Injektion in ziemlich beträchtlichem Umfange aufgetretenen Infiltrate geschwunden sind, werden alle Tiere mit je $^1/_2$ Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern) infiziert. Die Tiere zeigen schon nach 8 bis 10 Stunden örtliche Schwellungen und verenden in weniger als 24 Stunden.

3) 4 Meerschweinchen erhalten 0·2, beziehungsweise 0·5, 1·0 und 2 cm^3 einer Normalgiftlösung, die 1 Stunde auf 60° C. erwärmt war. Keine Reaktion. 7 Tage nachher Infektion mit $^1/_2$ Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern). Alle Tiere sterben an Rauschbrand nach 24 bis 30 Stunden.

4) 3 Meerschweinchen erhalten je 0·2 cm^3 einer lange gelagerten Giftlösung. Keine Reaktion. 6 Tage nachher wird die Infektion mit je 1 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich) vorgenommen. Im Verlaufe von 2 Tagen erliegen sämtliche Tiere der Infektion.

5) 3 Meerschweinchen erhalten je 4 Injektionen von 0·1, beziehungsweise 0·1, 0·3 und 0·4 cm^3 einer lange gelagerten Giftlösung. Die Tiere zeigen keine Schwellungen. Infektion 12 Tage nach der letzten Injektion mit je $^1/_2$ Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Amerika). Nach 20 bis 30 Stunden gehen sämtliche Tiere ein.

6) 6 große Meerschweinchen erhalten je 0·2 cm^3 Normalgiftlösung + 0·005 cm^3 eines 200fachen Serums. Keine Reaktion. Infektion (nach 10 Tagen) mit je 2 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Amerika). 1 Tier stirbt nach 48 Stunden, 1 Tier zeigt nach 48 Stunden die ersten Krankheitserscheinungen, verendet nach 4 Tagen. Die 4 übrigen Tiere bleiben gesund. Dieser Versuch ließ uns anfangs an eine Schutzwirkung glauben, doch stellte sich, wie im Text schon erwähnt, später heraus, daß auch nicht vorbehandelte große Meerschweinchen mit 2 Tropfen Rauschbrandsaft gelegentlich nicht erfolgreich infiziert werden können.

7) 1 großes Meerschweinchen erhält 2 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Amerika). Das Tier zeigt nur eine starke Schwellung, ist aber vollständig munter und weist nach 5 Tagen keine Veränderungen mehr auf.

8) 12 Meerschweinchen (siehe auch pag. 55) erhalten je 2·0, beziehungsweise 0·2 und 0·02 cm^3 einer 1/2 Normalgiftlösung, vermischt mit 0·1 und 0·5, beziehungsweise 0·01 und 0·05, beziehungsweise 0·001 und 0·005 cm^3 200fachen Normalserums. Teilweise Schwellungen. 12 Tage nach der Injektion werden sämtliche Tiere mit je 1 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Amerika) infiziert. Alle kleinen Tiere, mit Ausnahme jenes, das 2 cm^3 Giftlösung + 0·5 cm^3 Serum (Überschuß von Serum!) erhalten hatte, gingen zugrunde, ebenso ein kleines Kontrolltier. Alle großen Tiere, auch 2 frische große Kontrolltiere, bleiben am Leben. 1 Kontrolltier, mit 6 Tropfen infiziert, geht nach 24 Stunden zugrunde.

9) 2 große Meerschweinchen erhalten je 2·0 cm^3 Normalgiftlösung + 0·01, beziehungsweise 0·05, 0·1, 0·2, 0·5, 1·0 und 2·0 cm^3 200faches Normalserum injiziert. Leichte Schwellungen. Nach 20 Tagen Probeinfektion mit je 3 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Amerika). Gleichzeitig werden auch 2 Kontrolltiere infiziert. 5 vorbehandelte Meerschweinchen und beide Kontrolltiere gehen zugrunde. Nur die Tiere, die 2 cm^3 Giftlösung + 0·1 cm^3 Serum, beziehungsweise 2 cm^3 Giftlösung + 1 cm^3 Serum erhalten haben, bleiben am Leben.

10) 3 kleine Meerschweinchen erhalten je 0·5 cm^3 Normalgiftlösung + 0·005 cm^3 200faches Normalserum. Keine Reaktion. 6 Tage später Injektion von je 0·005 cm^3 einer 1/2 Normalgiftlösung. Nicht unbeträchtliche, mit Hämorrhagien verbundene Schwellungen. 12 Tage später Infektion mit je 1/3 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich). Alle Tiere gehen in 30 bis 36 Stunden typisch zugrunde.

Versuche an Schafen.

1) Ein 1- bis 2jähriges Merinoschaf wird mit 1/3 Tropfen Rauschbrandsaft infiziert (Stamm aus Bayern). Tod nach 36 Stunden. Typischer Sektionsbefund.

2) Es werden 6 vorbehandelte Schafe (siehe auch pag. 70) (I, II, III, IV, V, VI) und ein Kontrollschaf mit je 1 cm^3 einer Lösung, die in 10 cm^3 4 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern) enthielt, infiziert. Die Vorgeschichte ist folgende:

I erhielt vor 29 Tagen 5 cm^3 Normalgiftlösung + 0·5 cm^3 200faches Serum; vor 14 Tagen 5 cm^3 Normalgiftlösung und ist zur Zeit noch krank.

II erhielt vor 29 Tagen 5 cm^3 Normalgiftlösung + 0·5 cm^3 200faches Serum; vor 14 Tagen 2 cm^3 Normalgiftlösung. Völlig munter und normal.

III erhielt vor 29 Tagen 20 cm^3 einer Normalgiftlösung und 10 cm^3 200faches Normalserum an getrennten Körperstellen injiziert. Ganz gesund.

IV erhielt vor 29 Tagen 20 cm^3 200faches Normalserum injiziert.

V erhielt vor 14 Tagen 10 cm^3 Normalgiftlösung + 1 cm^3 200faches Serum. Normal.

VI erhielt vor 14 Tagen 10 cm^3 desselben Gemisches wie V. Normal.

Befund 24 Stunden nach der Infektion:

Kontrollschaf typisch verendet.

I schwer erkrankt, an der Injektionsstelle beträchtliche Schwellung.

II örtlich ziemlich starke Schwellung, Tier ziemlich munter.

III minimale Schwellung.

IV ohne Schwellung, völlig munter.

V Ziemlich schwer krank; ausgebreitete, derbe Geschwulst.

VI Ziemlich munter, Schwellung nicht sehr beträchtlich.

Befund 48 Stunden nach der Infektion:

I und V verendet, typischer Sektionsbefund.

III und IV munter.

II und VI schwerer krank, verweigern das Futter.

Befund 72 Stunden nach der Infektion:

III und IV vollständig munter, II und VI verenden. Typischer Sektionsbefund.

3) Infiziert werden 9 vorbehandelte Schafe (I—IX) und 2 Kontrolltiere mit je 1 cm^3 einer Lösung, die auf 30 cm^3 0·1 cm^3 Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern) enthält (= $^1/_{10}$ Tropfen).

Vorgeschichte (siehe auch pag. 70):

I vor 19 Tagen mit 2 cm^3 400fachen Normalserums behandelt.

II vor 19 Tagen mit 5 cm^3 400fachen Normalserums behandelt.

III vor 19 Tagen mit 0·3 cm^3 400fachen Normalserums behandelt, vor 10 Tagen mit 0·2 cm^3 10facher Normalgiftlösung, vor 6 Tagen mit 3 cm^3 10facher Normalgiftlösung behandelt. Tier zur Zeit der Infektion völlig munter. Schwellungen noch bestehend.

IV vor 19 Tagen mit 10 cm^3 10facher Normalgiftlösung + 0·3 cm^3 400fachen Normalserums behandelt.

V und VI wie IV.

VII vor 19 Tagen mit 20 cm^3 10facher Normalgiftlösung + 0·6 cm^3 400fachen Normalserums, vor 10 Tagen mit 0·5 cm^3 10facher Normalgiftlösung, vor 6 Tagen mit 3 cm³ 10facher Normalgiftlösung behandelt.

VIII vor 19 Tagen mit 10 cm^3 10facher Normalgiftlösung + 0·3 cm^3 400fachen Normalserums behandelt, sonst wie VII.

IX vor 19 Tagen mit 5 cm^3 10facher Normalgiftlösung + 0·15 cm^3 400fachen Normalserums behandelt, sonst wie VII.

Hinsichtlich des Alters der Tiere sei erwähnt, daß die Kontrolltiere bereits alle Milchzähne gewechselt hatten, Schaf IX besaß noch sämtliche Milchzähne, VII hatte 6 Zähne gewechselt, ebenso Schaf I, die anderen Tiere hatten 4 bis 6 Zähne gewechselt.

Befund 24 Stunden nach der Infektion.

Alle Schafe frei von örtlichen oder allgemeinen Reaktionen mit Ausnahme von Schaf IV, das eine flache, etwa handtellergroße Schwellung aufwies, sonst ganz munter war.

Am selben Tage mittags wird sämtlichen Schafen neuerdings je 1 cm^3 einer Lösung injiziert, die auf 20 cm^3 0·75 cm^3 Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern) enthielt (= 1 Tropfen pro Tier).

Befund 24 Stunden später:

Schaf IV unter typischen Erscheinungen verendet. Alle anderen Tiere frei von jeglichen Krankheitserscheinungen.

Befund 48 Stunden später.

Tier IX zeigt eine kleine, wohl umschriebene Geschwulst an der Impfstelle mit Hämorrhagien, V eine beträchtliche, reichlich mit Blutungen durchsetzte Schwellung. Beide Tiere noch munter, fressen und wiederkauen. Alle anderen Tiere, die Kontrolltiere eingeschlossen, munter. Keine örtlichen Veränderungen.

Die Schwellung von Tier IX geht bald zurück, hingegen genest Schaf V erst nach zirka 2 Wochen.

Versuche an Rindern.

1) Jungrind, am 17. März 1901 mit 3 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich) infiziert. Nach 36 Stunden typisch verendet. (Ausgebreitetes hämorrhagisch-sulziges Ödem, Schwarzfärbung der Muskulatur etc.)

2) Kleiner, zirka $1^1/_4$jähriger Ochse. 28. Februar 1901. Subkutane Injektion einer Agarkultur „denaturierter" Rauschbrandstäbchen (Stamm aus Niederösterreich). Beträchliche Schwellung, deutliches Krepitieren an der Impfstelle. Bereits am Abend geht die Schwellung zurück. Allgemeinbefinden des Tieres nicht gestört. 15. März Injektion von 2·5 *cm*³ einer sporulierenden Muskelzuckerbouillonkultur (Stamm aus Niederösterreich). Reaktionsloser Verlauf. 22. März Injektion von 8 *cm*³ einer sporulierenden Muskelzuckerbouillonkultur (Stamm aus Niederösterreich); gleichfalls ohne Reaktion.

10. April Probeinfektion mit 3 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich). Stirbt nach 48 Stunden an typischem Rauschbrand.

3) Junger, roter Stier. 19. März 1901 Injektion von 5 *cm*³ einer mit Chloroform versetzten, sporulierenden Muskelzuckerbouillonkultur (Rauschbrandstamm aus Bayern). Weder örtliche noch allgemeine Reaktion.

Am 23. März Injektion von 8 *cm*³ einer 6tägigen, sporulierenden, mit Chloroform versetzten Muskelzuckerbouillonkultur (Stamm aus Bayern). Am 24. März keine Reaktion. Am 25. März: An der Impfstelle beginnt sich eine Geschwulst zu bilden. Die Schwellung nimmt in den nächsten Tagen zu und erstreckt sich bis in den Triel und die linke Bauchseite. Rauschen nirgends fühlbar. Tier matt, verweigert die Futteraufnahme. Am 28. März stirbt das Rind. Die Sektion bot das charakteristische Bild eines schweren Impfrauschbrandes. Im weiten Umkreise an der Impfstelle ausgedehnte, gelbsulzige Infiltrationen. Die Schultermuskulatur von Gasblasen durchsetzt und in eine kohlige Masse verwandelt.

4) Probeinfektion eines vorbehandelten Jungrindes und eines Kontrolltieres am 22. Februar 1901 mit je 18 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich).

Vorgeschichte (siehe auch pag. 34): Am 22. Januar Injektion von 2·5 *cm*³ Normalgiftlösung, am 13. Februar von 2·5 *cm*³ Normalgiftlösung. Beide Jungrinder gehen nach 31, beziehungsweise 38 Stunden an Rauschbrand zugrunde. Bemerkenswert ist, daß das vorbehandelte Rind während des ganzen Verlaufes der Infektion niemals Fieber gezeigt hat.

5) Infektion eines 3monatlichen Kalbes mit 10 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich). Keine Reaktion.

6) Probeinfektion (am 10. April 1901) von 3 vorbehandelten Jungrindern und einem Kontrolltier mit je 3 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich).

Vorgeschichte: Rind I (siehe auch pag. 35). Injektion am 1. Februar von 1·5 cm^3 Normalgiftlösung, am 18. Februar von 5·0, am 1. März von 20·0, am 11. März von 40·0, am 19. März von 100 cm^3 derselben Giftlösung (ziemlich unverändert wirksam).

Rind II (siehe auch pag. 36). Am 6. März 1·7 cm^3 einer $^1/_2$ Normalgiftlösung, am 11. März 10·0, am 19. März 50 cm^3 derselben Giftlösung injiziert.

Rind III (siehe auch pag. 36). Injektion am 8. März von 2·5 cm^3 $^1/_2$ Normalgiftlösung, am 11. März von 10·0, am 19. März von 50 cm^3 derselben Giftlösung.

Bei der Probeinfektion mit Rauschbrandsaft (10. April) geht das Kontrolltier in 52 Stunden zugrunde. I zeigt weder lokale noch Allgemeinerscheinungen. II zeigt Fieber und eine geringfügige örtliche Schwellung, III eine stärkere Schwellung an der Injektionsstelle, die sich im Verlaufe von 11 Tagen deutlich abgrenzt und abszediert. Inzision, Heilung. II und III waren stets munter.

7) Am 10. Dezember 1901 Probeinfektion von 4 langhaarigen, bosnischen Jungrindern (8monatlich bis $1^1/_2$jährig) mit je 5 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich). 3 Tiere vorbehandelt, 1 Kontrolltier (siehe auch pag. 37).

Vorgeschichte:

I. Am 17. November Injektion von 5 cm^3 einer auf 60° C. eine Stunde erwärmten $^1/_2$ Normalgiftlösung, am 26. November von 12, am 2. Dezember von 20 cm^3 derselben (erwärmten) Lösung.

II wie I.

III. Injektion am 17. November von 5 cm^3 derselben Giftlösung, nicht erwärmt, am 26. November von 12·0, am 2. Dezember von 20 cm^3 der Giftlösung.

Bei der Probeinfektion bleibt das Kontrolltier gesund, Rind I und II sterben nach 48 bis 56 Stunden an typischem Rauschbrand. Rind III akquiriert eine nicht unbeträchtliche Schwellung, die nach 2 Tagen sich in den Triel erstreckt und erst nach 9 Tagen gänzlich geschwunden ist. Das Tier ist im übrigen munter.

8) 14. April 1902 Probeinfektion von 6 Jungrindern mit je 2 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich). 1 Kontrolltier, 5 vorbehandelte Rinder (siehe auch pag. 37).

Vorgeschichte:

I am 26. März und 5. April (von tierärztlicher Seite) mit Vaccin I und Vaccin II nach dem Lyoner Verfahren vorbehandelt. Ein gleichzeitig mit Rind I geimpfter, zweiter Jungstier war anläßlich der Impfung mit Vaccin I (Berner Impfstoff) an Rauschbrand zugrunde gegangen.

II am 26. März mit 4 cm^3 einer durch 4 Monate gelagerten, fast unwirksamen Giftlösung, am 5. April mit 12 cm^3 derselben Lösung behandelt.

III am 26. März mit 6, am 5. April mit 16 cm^3 der gelagerten Giftlösung behandelt.

IV am 26. März mit 8, am 5. April mit 20 cm^3 gelagerter Giftlösung behandelt.

V am 26. März mit 6, am 5. April mit 16 cm^3 einer $^1/_5$ Normalgiftlösung behandelt.

Bei der Probeinfektion gehen das Kontrolltier und II, III, IV und V an typischem Rauschbrande in 61 bis 79 Stunden zugrunde.

I zeigt 24 Stunden nach erfolgter Infektion eine beträchtliche Schwellung, die sich in den Triel erstreckt. Nach 48 Stunden hat die Geschwulst beträchtlich zugenommen. Das Tier liegt viel, ist matt und verweigert die Nahrungsaufnahme. Nach 4 Tagen erholt sich das Rind scheinbar, am fünften Tage treten aber neuerlich bedrohliche Erscheinungen auf, und die Schwellung, die seit 2 Tagen stationär gewesen war, schreitet neuerlich vorwärts. Da in der nächsten Zeit eine Wendung zum Bessern nicht eintritt und die Schwellung exulzeriert, wird das Tier getötet.

9) Probeinfektion (am 6. März 1903) von 10 Jungrindern mit je 5 Tropfen Rauschbrandsaft (Rauschbrandstamm aus Bayern), 2 Kontrolltiere, 8 vorbehandelte Tiere (siehe auch pagg. 38 bis 40).

Vorgeschichte:

I am 15. Januar 1903 mit 10 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung, am 30. Januar mit 10 cm^3, am 11. Februar mit 20 cm^3 Normalgiftlösung vorbehandelt. Am 25. Februar 40 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung injiziert.

II, III und IV am 19. Januar mit je 3 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung, am 30. Januar mit je 10 cm^3, am 11. Februar mit je 20 cm^3 Normalgiftlösung, am 25. Februar mit je 40 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung vorbehandelt. Das Blutserum von III und IV wird nach der letzten Injektion geprüft und erweist sich als kräftig antitoxisch (0·05 cm^3, beziehungsweise 0·1 cm^3 neutralisieren 1 cm^3 einer 2fachen Normalgiftlösung).

V wie II, III und IV, nur außerdem am 20. Januar noch mit 30 cm^3 200fachen Normalserums behandelt.

VI am 28. Januar mit 3 cm^3 einer Normalgiftlösung behandelt. Intensive Schwellung. 7. Februar Injektion von 10 cm^3 Normalgiftlösung. Gleichfalls sehr starke Schwellung. 14. Februar Injektion von 20 cm^3, 25. Februar Injektion von 40 cm^3 derselben Giftlösung.

VII wie VI, nur wesentlich schwächere Reaktion, Geschwulst sehr empfindlich.

VIII wie VI, Reaktion noch schwächer.

Bei der Probeinfektion zeigt sich folgendes: Beide Kontrolltiere erkranken nicht und weisen auch nicht die geringste Schwellung auf, obwohl ein notorisch virulentes Material, das Meerschweinchen gleichzeitig in der Dosis von 1 und 3 Tropfen unter typischen Rauschbranderscheinungen tötete, angewendet wurde.

I, II, IV, V und VII ganz ohne Schwellung, auch Allgemeinbefinden unverändert.

III weist bereits 24 Stunden nach der Infektion schwere Krankheitserscheinungen auf und verendet an typischem Rauschbrand trotz seines stark wirksamen antitoxischen Serums nach 48 Stunden.

VI zeigt eine beträchtliche Geschwulst, die sich bis in den Triel erstreckt, ist aber ganz munter. Die Schwellung bleibt 5 Tage bestehen.

VIII weist an der Injektionsstelle eine über faustgroße, gut abgegrenzte Schwellung auf, die anfangs zu abszedieren droht, jedoch nach einer Woche sich verflacht und, ohne aufzubrechen, zur Resorption gelangt. Tier stets munter.

Herr Ministerialrat i. P. Bernhard Sperk hatte die Liebenswürdigkeit, uns die Publikation der 2 nachfolgenden, von ihm im Auftrage der Regierung angestellten Schutzimpfungsversuche zu gestatten.

10) 2 Jungrinder werden nach dem Lyoner Verfahren mit Vaccin I und II am Schweife geimpft. 10 Tage nach der zweiten Impfung wird an diesen Tieren zugleich mit einem Kontrolltier die Probeinfektion durch Injektion von Rauschbrandsaft (Stamm aus Niederösterreich) vorgenommen, und zwar bei dem Kontrolltier und dem einen der vorbehandelten Tiere hinter der linken Schulter, beim zweiten vorbehandelten Tier durch Einverleibung des Infektionsmateriales unter die Schweifhaut, jedesmal in der Dosis von 12 Tropfen.

Das am Schweife infizierte Rind bleibt vollständig normal, das Kontrolltier stirbt nach 4 Tagen an Rauschbrand. Das zweite vorbehandelte Tier zeigt bereits 12 Stunden nach der Infektion hohes Fieber. Die Injektionsstelle weist eine deutliche Schwellung auf, die sich auch nach abwärts erstreckt. Das Tier lahmt.

Am anderen Tage Temperatur noch immer 40·0° C. Die Schwellung geht aber zurück, auch das Allgemeinbefinden des Rindes bessert sich zusehends. Nach 3 Tagen ist das Tier wieder hergestellt.

11) Probeinfektion von 4 nach dem Lyoner Verfahren vorbehandelten Rindern und 1 Kontrolltier, 10 Tage nach der zweiten Impfung, mit Rauschbrandsaft. Das Kontrolltier und 2 vorbehandelte Rinder gehen an typischem Rauschbrand zugrunde, die beiden anderen Tiere zeigen keine Veränderungen.

B. Wirkungsweise des Serums.

a) Gemische von Serum und Kulturen, beziehungsweise Serum und Ödemflüssigkeit.

1) Von einer gärenden, 1tägigen Rauschbrandzuckerbouillonkultur wird 3 Meerschweinchen je 1 *cm*³, vermengt mit 1 (I), beziehungsweise 2 (II) und 5 Tropfen (III) 400fachen Normalserums, injiziert. Keine Reaktion. Nach 2 Tagen wird von derselben Kultur wieder je 1·0 *cm*³, mit 1, 2 und 5 Tropfen Serum versetzt, den Meerschweinchen injiziert. I geht nach 24 Stunden, II nach 3 Tagen III nach 4 Tagen an Rauschbrand zugrunde.

Insbesondere bei Tier III war der Verlauf ein recht schleppender, und entsprach auch hinsichtlich der Ausdehnung der Schwellung und des Allgemeinbefindens nicht dem gewöhnlich beobachteten Bilde. Interessant war der Sektionsbefund. Das Unterhautzellgewebe an der Injektionsstelle war in weitem Umkreise mit Eiterzellen dicht infiltriert, die vielfach die Rauschbrandstäbchen in ihrem Innern eingeschlossen hielten.

2) Von der in Versuch 1) verwendeten Kultur werden, wieder am 1. und am 3. Tage des Wachstums, je 0·2 *cm*³ 2 Meerschweinchen subkutan einverleibt. Beide Tiere starben nach 24 Stunden.

3) Von einer gärenden, 1tägigen Rauschbrandzuckerbouillonkultur werden 3 Meerschweinchen 1·0, beziehungsweise 0·5 und 0·25 *cm*³, jedesmal versetzt mit 1·0 *cm*³ 400fachen Normalserums, injiziert. Keine Reaktion. Die gleichen Tiere erhalten 3 Tage später von derselben Kultur die gleichen Dosen, vermengt mit den entsprechenden Serummengen. Alle Tiere weisen leichte Schwellungen auf, sind im übrigen munter. 11 Tage später werden alle Meerschweinchen mit je 4 Tropfen Rauschbrandsaft infiziert. Alle erliegen unter typischen Erscheinungen.

4) Von der in Versuch 3) verwendeten Kultur (4tägig) werden 0·25, 0·5 und 1·0 *cm*³ mit je 1 *cm*³ 400fachen Normalserums versetzt und 3 Meerschweinchen injiziert. Das mit 1 *cm*³ Serum + 1 *cm*³ Kultur behandelte Tier zeigte 24 Stunden nach der Injektion eine schlaffe, ausgebreitete Schwellung mit stellenweise exkoriierter Haut; nach 5 Tagen war die Schwellung geschwunden.

Die beiden anderen Tiere zeigten geringgradige, derbe Schwellungen.

5) Von einer 3tägigen, gärenden Zuckerbouillonkultur wird 2 Meerschweinchen je 1·0 *cm*³ + 7 Tropfen 400faches Normalserum injiziert. Tiere munter. Keine Schwellung.

6) 3 Meerschweinchen erhalten 0·5 (I), beziehungsweise 0·2 (II) und 0·1 *cm*³ (III) Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern), versetzt mit den jeweils gleichen Dosen 400fachen Normalserums, subkutan injiziert. I und II gehen innerhalb 24 Stunden an Rauschbrand zugrunde, III ist munter, ohne Schwellung. III wird nach einer Woche wieder mit dem gleichen Gemenge injiziert. Reagiert wieder nicht.

7) 2 Meerschweinchen erhalten je 2 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Amerika), versetzt mit 2, beziehungsweise 5 Tropfen 400faches Normalserum, injiziert. Beide weisen bereits 6 bis 8 Stunden später starke Schwellungen mit deutlich abgegrenzter Gasansammlung auf. Die Tiere verenden nach 24 Stunden.

8) 3 Meerschweinchen erhalten je 1 *cm*³ 400faches Normalserum mit 3, beziehungsweise 4 und 6 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern). Ein Tier (6 Tropfen) zeigt keine Schwellung, ist munter, die beiden anderen gehen nach 24 Stunden an Rauschbrand zugrunde.

b) Schutzwirkung präventiver Seruminjektionen.

1) 4 Meerschweinchen werden mit je 0·1 *cm*³ eines 200fachen Normalserums, 4 Meerschweinchen mit je 1 *cm*³ eines Kontroll-Rinderserums vorbehandelt. Infiziert werden sämtliche Tiere mit je 0·2 *cm*³ junger Muskel-

zuckerbouillonkulturen (4 Stämme von Rauschbrandbazillen, aus Niederösterreich, aus Bayern, aus Amerika und aus der Schweiz stammend). Die 4 mit Rauschbrandserum vorbehandelten Tiere zeigen nur leichte Schwellungen, die 4 mit Kontrollserum behandelten Tiere gehen nach 48 bis 60 Stunden typisch zugrunde.

2) 2 Meerschweinchen (intraperitoneal) mit 0·05 und 0·01 *cm*³ 200fachen Normalserums, ein drittes mit 0·5 *cm*³ Kontrollserum vorbehandelt. 24 Stunden nachher werden die 3 Tiere mit je 0·05 *cm*³ einer eintägigen Muskelzuckerbouillonkultur (Stamm aus Bayern) subkutan infiziert. Die beiden mit Rauschbrandserum vorbehandelten Tiere sind ganz munter und zeigen nur eine leichte Schwellung.

Das Kontrolltier erkrankt schwer, zeigt eine exkoriierte, ausgedehnte Schwellung, die zur Nekrose führt und erst nach 3 Wochen mit Narbenbildung ausheilt.

3) 5 Meerschweinchen werden mit je 0·5 *cm*³ 200fachen Normalserums, ebenso 2 Kontrolltiere mit je 0·5 *cm*³ eines von einem normalen Rinde stammenden Serums (intraperitoneal) vorbehandelt. Nach 48 Stunden Probeinfektion mit je 0·5 *cm*³ frischer Muskelzuckerbouillonkulturen (Rauschbrandstämme aus der Schweiz und Amerika).

Die beiden Kontrolltiere sterben nach 24 Stunden typisch an Rauschbrand, die anderen bleiben gesund, eines erwirbt eine etwas stärkere Schwellung, die mit Narbenbildung ausheilt.

4) 4 Meerschweinchen erhalten je 1 *cm*³ eines 200fachen Normalserums intraperitoneal injiziert. 48 Stunden später Probeinfektion mit je 0·05 *cm*³ 1tägiger Muskelzuckerbouillonkulturen von 4 verschiedenen Ödembazillenstämmen (aus menschlichem „Gasbrand", aus Erde, aus der Peritonealflüssigkeit eines Pferdekadavers gezüchtet, ein Originalstamm aus dem Pasteurschen Institute „*Vibrion septique*"). Alle Tiere gehen innerhalb 24 Stunden typisch zugrunde.

5) 2 Meerschweinchen erhalten je 2 *cm*³ 400fachen Normalserums intraperitoneal injiziert. 24 Stunden später Infektion mit je 0·02 *cm*³ einer Muskelzuckerbouillonkultur des aus Erde gezüchteten Ödembazillenstammes. Beide Tiere gehen typisch nach 28 bis 32 Stunden zugrunde.

6) 8 kleine Meerschweinchen werden mit je 0·2 *cm*³ 200fachen Normalserums vorbehandelt. 24 Stunden später Probeinfektion mit je 2 Tropfen Rauschbrandsaft (4 Stämme).

6 Meerschweinchen gehen nach 36 bis 40 Stunden zugrunde, 2 zeigen nach 24 Stunden nur eine leichte Schwellung, erliegen aber nach 48 Stunden gleichfalls der tödlichen Infektion.

7) 2 kleine Meerschweinchen erhalten je 0·4 *cm*³ 200fachen Normalserums intraperitoneal injiziert, ebenso wird einem Kontrolltier 1 *cm*³ Kontroll-Rinderserum intraperitoneal injiziert. 24 Stunden später Probeinfektion mit je $^1/_3$ Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus der Schweiz). Das Kontrolltier stirbt nach 24 Stunden. Die mit Rauschbrandserum vorbehandelten Meerschweinchen bleiben ganz normal.

8) 4 kleine Meerschweinchen erhalten 1·0 (I), beziehungsweise 0·75 (II), 0·5 (III) und 0·1 *cm*³ (IV) 400fachen Normalserums, 2 kleine Meerschwein-

chen erhalten je 3 cm^3 Kontroll-Rinderserum intraperitoneal injiziert. Probeinfektion nach 24 Stunden mit je $^1/_2$ Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern). Die beiden Kontrolltiere sterben innerhalb 24 Stunden an typischem Rauschbrand, I weist keine Schwellungen auf und ist völlig normal, II, III und IV gehen nach 36 bis 42 Stunden an Rauschbrand ein.

9) 2 mittelgroße Meerschweinchen erhalten je 3 cm^3 400 faches Normalserum intraperitoneal injiziert, 1 großes Meerschweinchen erhält 6 cm^3 Kontroll-Rinderserum. Nach 24 Stunden Probeinfektion mit je 2 Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern). Das Kontrolltier stirbt nach 20 Stunden, die beiden mit Rauschbrandserum vorbehandelten Tiere weisen keine Krankheitserscheinungen auf.

10) Von 9 mittelgroßen Meerschweinchen erhalten 3 je 1·5 cm^3, 2 je 1 cm^3, eines 0·5 cm^3 400faches Normalserum intraperitoneal injiziert. 3 mittelgroße Meerschweinchen erhalten 4·0, beziehungsweise 5·0 und 8·0 cm^3 Serum eines nicht vorbehandelten Rindes. 24 Stunden später Probeinfektion mit je $^1/_2$ Tropfen Rauschbrandsaft (Stamm aus Bayern). Die Kontrolltiere verenden bereits nach 18 Stunden an typischem Rauschbrand. Alle anderen Tiere sind munter, und nur vereinzelte weisen leichte Schwellungen auf, die sich nach 48 Stunden bereits zurückbilden.

11) 3 große Meerschweinchen erhalten je 5 cm^3, 2 Tage darauf je 10 cm^3 400faches Normalserum intraperitoneal injiziert. 24 Stunden nach der zweiten Injektion wird die Probeinfektion der Tiere mittels Saftes eines an malignem Ödem zugrunde gegangenen Meerschweinchens vorgenommen (3 verschiedene Stämme), und zwar wird die Muskulatur der Bauchwand des an Ödem eingegangenen Tieres ausgeschnitten und mit 10 cm^3 Bouillon ausgelaugt. Von der Aufschwemmung wird je $^1/_2$ Tropfen den Meerschweinchen injiziert. Alle 3 Tiere gehen nach 24 bis 30 Stunden typisch zugrunde.

12) 6 kleine Meerschweinchen, mit je 4 cm^3 400fachen Normalserums vorbehandelt (intraperitoneal), werden 24 Stunden später mit je 0·002 cm^3 Ödemflüssigkeit eines an malignem Ödem verendeten Meerschweinchens subkutan infiziert. Alle Tiere gehen nach 24 bis 30 Stunden typisch zugrunde.

13) 2 Affen (Rhesus), von denen einer 10 Tage vorher mit 10 cm^3 400fachen Normalserums vorbehandelt worden war, werden mit je 5 Tropfen Rauschbrandsaft infiziert. Der vorbehandelte Affe bleibt gesund, der nicht vorbehandelte geht bereits nach 15 Stunden ein. Bei der Sektion finden sich nur geringfügige, örtliche Veränderungen (mikroskopisch spärliche Bazillen), so daß die Annahme einer akzidentellen Todesursache (das Tier litt an Diarrhöen) wahrscheinlich wurde. Siehe aber folgenden Versuch:

14) Ein Kapuzineraffe erhielt 0·4 cm^3 Rauschbrandsaft subkutan injiziert. Nach 36 Stunden verendet das Tier. Die Sektion bot in ungewöhnlich ausgedehntem Maße das typische Bild des Impfrauschbrandes. In der hämorrhagisch-sulzigen Ödemflüssigkeit finden sich zahlreiche Rauschbrandbazillen, stellenweise versport, ohne Granulose.

Die spärlichen, an Schafen ausgeführten Versuche sind bereits pag. 86 bis 88 angeführt.

Anhang.

Die Rauschbrand-Schutzimpfung.

Schon frühzeitig, sobald als die Studien über den Rauschbrandbazillus zur Darstellung hochwirksamer Giftlösungen geführt hatten, war uns, wie schon öfter erwähnt, der Gedanke gekommen, die Rauschbrand-Giftlösungen für ein Schutzimpfungsverfahren gegen den Weiderauschbrand zu verwenden, und die zahlreichen Versuche, die Beziehungen zwischen Giftschutz und Impfrauschbrand festzustellen, sollten hierfür die theoretische Grundlage abgeben. Ehe wir auf unsere bisherigen Erfahrungen und auf die Aussichten des von uns geübten Verfahrens zu sprechen kommen, möge das Wichtigste über den Weiderauschbrand und über die bisher üblichen Schutzimpfungsverfahren auseinandergesetzt werden, damit die Leser über den gegenwärtigen Stand der Frage orientiert sind.

Der Weiderauschbrand gilt allgemein als eine endemische Seuche, die, ohne sich durch Übertragung von Tier zu Tier auszubreiten, in vielen Gegenden Europas und der außereuropäischen Welt unter den Rindern, insbesondere den Kälbern und Jungrindern, arge Verheerungen anrichtet. Besonders in Hochtälern, auf manchen Alpenweiden, gelegentlich auch auf Hausweiden, im Stalle, erfolgt der Ausbruch der Krankheit, ohne daß man über die Epidemiologie der Krankheit, die begünstigenden Momente, die Ursachen des Abfallens in manchem Jahre, die Zeit des Ausbruches etc. mehr als Vermutungen hat. Es gibt Hochalpen, auf welchen von dem sommernden Jungvieh gelegentlich 60 bis 100% an Rauschbrand zugrunde gingen, während die durchschnittliche Mortalität unter dem Rindvieh, welches auf „Rauschbrandalpen" getrieben wird, zu 2 bis 5% angegeben wird.

Die Erscheinungen, welche der Rauschbrand beim Kalbe oder Jungrind hervorruft, sind ganz charakteristisch und lenken frühzeitig die Aufmerksamkeit des Hirten auf das erkrankte Stück, das er dann nur in den seltensten Fällen noch zu Tal treiben kann. Als erstes Symptom der ausgebrochenen Erkrankung fällt gewöhnlich in die Augen, daß die Tiere auf

einem Beine lahmen (gewöhnlich auf einem Vorderbein), dabei verlieren sie ihre Munterkeit und die Freßlust. Frühzeitig entdeckt man an einer oder mehreren Körperstellen Schwellungen, die sogenannten Rauschbrandgeschwülste, disseminiert (nicht konfluierend) auftretende Infiltrationen der Subcutis und der Muskulatur, die dadurch gekennzeichnet sind, daß sie beim Darüberstreichen mit der Hand ein eigentümliches Knistern, ein „Rauschen" wahrnehmen lassen, worauf ja auch der Name „Rauschbrand" zurückzuführen ist. Die Tiere fiebern während der Erkrankung, sie zeigen trockenes Maul, die Defäkation ist gewöhnlich sistiert. Bei foudroyantem Verlauf erfolgt der Tod des Tieres gewöhnlich schon innerhalb 24 Stunden nach dem Auftreten der ersten Symptome. Wird die Sektion des Kadavers vorgenommen, so findet man beim Durchschneiden der Geschwülste blutig-seröse Infiltrationen, vorwiegend in den Schultermuskeln, Gasansammlung in der Sulze und in der Muskulatur, Blutungen im Herzfleische und unter dem Endokard. Der Befund ist von dem bei Impfrauschbrand erhobenen nicht wesentlich verschieden, nur fehlt, wenn mehrere Rauschbrandgeschwülste vorliegen, die Kontinuität derselben wie in vivo, so auch im Kadaver.

Bemerkenswert ist, daß man in dem Verbrennen der auf den Alpen gefallenen Tiere ein wertvolles prophylaktisches Mittel für die Eindämmung des Rauschbrandes gefunden hat, ein Umstand, der auf die Bedeutung der Rauschbrandkadaver für die Verschleppung der Seuche ein Licht wirft.

In holzarmen Gegenden aber behilft man sich noch immer, soferne überhaupt Maßnahmen getroffen werden, mit der Verscharrung der Tiere, eine, namentlich bei felsigem Terrain, wenig aussichtsreiche Prozedur!

Der wirtschaftliche Schaden, der durch den Weiderauschbrand dem Viehstande, oft gerade des Ärmsten zugefügt wird, hat nun zu einer Reihe von Abwehrmaßnahmen geführt, als deren wichtigste die Rauschbrand-Schutzimpfung zu bezeichnen ist. Die bisherigen Bestrebungen lassen sich am besten in folgender Weise klassifizieren.

Es kommen in Betracht:

I. Die Schutzimpfung mit „abgeschwächtem" rauschbrandigen Materiale (Blut, Ödemflüssigkeit oder Muskulatur eines Rauschbrandkadavers).

II. Die Schutzimpfung mit Kulturen des Rauschbrandbazillus.

III. Die kombinierte Schutzimpfung mit einem antiinfektiösen Serum und darauffolgender Injektion vollvirulenter oder „abgeschwächter" Rauschbrandkulturen.

ad I. Als das wichtigste der in diese Gruppe gehörenden Verfahren muß das sogenannte „Lyoner" Verfahren bezeichnet werden. Dasselbe besteht in der Applikation eines in Wasser verriebenen und suspendierten Pulvers, das in folgender Weise hergestellt wird.

Rauschbrandige Muskelstücke werden ausgepreßt, der abfließende Saft getrocknet. Der hierbei entstehende Rückstand wird angefeuchtet und durch mehrere Stunden einer Temperatur von 80 bis 90° C. unterworfen. (In Bezug auf die Dauer und den Grad der Erhitzung weichen die einzelnen Verfahren in geringem Grade voneinander ab.) Durch stärkeres oder schwächeres Erhitzen werden in jedem Falle zwei verschiedene Impfstoffe gewonnen — Vaccin I und Vaccin II —, die, in Wasser suspendiert, in Intervallen von 10 Tagen den Rindern meist unter die Schweifhaut eingespritzt werden. Gelegentlich wurde auch hinter der Schulter injiziert.

Das Wesentliche bei diesem Verfahren liegt — soweit von der Fabrikation abgesehen wird — darin, daß das Pulver sorgfältig mit Wasser verrieben werden muß, ehe die Injektion vorgenommen wird.

Von der Ausführung dieser Prozedur hängt anscheinend viel ab. Einmal soll es nach den Angaben der Fachleute bei Verwendung mangelhaft verriebenen Pulvers, infolge der Einverleibung größerer Schollen sehr leicht zu Impfrauschbrand kommen. Anderseits wird aber durch zu feines Verreiben des Pulvers die nützliche Reaktion des Körpers vereitelt, indem die kleinsten Krümelchen durch Phagocyten vorzeitig und in unzweckmäßiger Weise beseitigt werden (schädlicher Einfluß der Phagocytose nach Leclainche-Vallée und Kitt). —

Das „Lyoner" Verfahren ist wohl noch immer die am meisten angewendete Schutzimpfungsmethode, die von den Entdeckern, Arloing, Cornevin, Thomas auch im Laboratorium erprobt wurde (s. o.).

Der Erfolg des Verfahrens in der Praxis und demgemäß seine Beurteilung lassen wenig Gleichmäßigkeit erkennen. Nach mancher Statistik ist der Erfolg günstig, indem nur 0·3 bis 0·4% der Impflinge an Weiderauschbrand zugrunde gehen, in anderen Fällen ist von einer schützenden Wirkung des Verfahrens (manche Erfahrungen in der Schweiz) wenig zu bemerken, ja öfters, wie es der Zufall gerade mit sich bringt, gehen unter den — vielleicht mehr gefährdeten — Impflingen mehr Tiere zugrunde als unter den nicht vorbehandelten Tieren.

Das „Lyoner" Verfahren ist für den Impftierarzt mühsam. So bequem der Transport des in kleinen Glasphiolen aufbewahrten Impfpulvers sich gestaltet, so unbequem (und verantwortungsvoll) ist das Verreiben desselben, das für je 10 Stück Impflinge besonders vorgenommen werden soll und zu vielerlei Unzukömmlichkeiten führt.

Hierzu kommt, daß trotz emsigsten Verreibens des Impfstoffes und bester Schulung des Impftierarztes häufig genug im Anschlusse an die Impfung sich Unfälle ereignen, wie Ausfallen des Schweifes oder tödlicher Impfrauschbrand, ohne daß im einzelnen Falle den Tierarzt eine Schuld trifft. Treten die Fälle von Impfrauschbrand bei Verwendung des Pulvers eines bestimmten „Jahrganges" gehäufter auf, dann ist man eben zu der Annahme gezwungen, daß bei der Herstellung desselben die „Abschwächung" nicht derart vor sich gegangen war, als beabsichtigt wurde.

Insbesondere die Schulterimpfung ist wegen des hohen Perzentsatzes an Unfällen in unseren Alpenländern lange in Verruf gewesen, und ist schließlich aufgegeben worden.

Eine einfachere Modifikation dieser Methode, die von Thomas ersonnen wurde, ist in Amerika schon in zahlreichen Fällen zur Anwendung gekommen, wobei auch nur eine einmalige Impfung erfolgt. Bei dieser Methode wird ein mit rauschbrandigem Blut imprägnierter Faden mit Hilfe einer kleinen Harpune unter die Schweifhaut gezogen, wo er bis zu seiner Abstoßung liegen bleibt. Hierbei kommt es angeblich regelmäßig zu einer örtlichen Entwicklung der Mikrobien, wie durch den Meerschweinchenversuch jederzeit nachgewiesen werden konnte. Der Erfolg dieses Verfahrens in der Praxis soll ein günstiger sein.

ad II. Die Impfung mittels Reinkulturen wurde unseres Wissens nur von Kitt an einigen tausend Rindern, sowie von mehreren Tierärzten, die Kitts Impfstoff bezogen, vorgenommen. Der Erfolg war ein günstiger, wenngleich auch hier Impfunfälle nicht ausgeschlossen werden konnten. Als Impfstoff fanden Agarkulturen, hauptsächlich aber Bouillonkulturen, die kurze Zeit im strömenden Dampf erhitzt worden waren, Verwendung. Die Dosis betrug in diesem Falle 3 cm^3 pro Rind (einmalige Impfung). 0·5 bis 1·0 cm^3 des Impfstoffes riefen bei Meerschweinchen verläßlich tödlichen Rauschbrand hervor. Erfahrungen über diese Methode hat auch Herr Landesveterinärreferent Suchanka gesammelt.

ad III. Die kombinierte Impfung mit Serum und nachfolgender Injektion „abgeschwächter" oder vollvirulenter Rauschbrandkulturen wird in der Praxis in größerem Maßstabe noch nicht durchgeführt, ist aber von Kitt und später von Leclainche und Vallée auf Grund von Laboratoriumsexperimenten empfohlen worden.

Auch das Pasteur-Jenner-Institut in Budapest soll solchen Impfstoff an Interessenten abgeben. Ausgedehntere Erfahrungen fehlen noch. Im Laboratoriumsexperimente war der Effekt ein günstiger. Es sollen auch Impfunfälle nicht vorgekommen sein.

Bemerkenswert ist, daß sowohl die französischen Autoren als auch wir selbst bei Meerschweinchen durch kombinierte Impfung (in unseren Versuchen Verwendung hochgradig antitoxischen Serums) keinen Schutz vor einer nachträglich vorgenommenen Infektion erzielen konnten.

Hiermit soll aber die Verwertbarkeit der genannten Methode nicht in Abrede gestellt werden, da — wie es heute wohl feststeht, kein einziges der in der Praxis üblichen Verfahren mit Sicherheit gegen die künstliche Infektion mit vollvirulentem Rauschbrandmateriale schützt, während trotzdem ein mehr oder minder weitgehender Schutz gegen den Weiderauschbrand durch solche Verfahren bewirkt werden kann.

Allen den besprochenen Verfahren kommt das Gemeinsame zu, daß bei denselben Kulturen des Rauschbrandbazillus oder sporenhältiges Rauschbrandmateriale, in welchen die spezifi-

schen Erreger entweder „vollvirulent“ oder „abgeschwächt“ sind, in Anwendung kommen, und daß eine örtliche Entwicklung der eingebrachten Keime eintreten muß, soferne ein Schutz vor der nachmaligen spontanen (oder künstlichen) Infektion geschaffen werden soll. Diese Annahme scheint uns vollbegründet und wird, wie wir glauben, auch von den Autoren allgemein geteilt. Sowohl Leclainche und Vallée als auch Kitt, bezeugen eine solche Auffassung durch die Vermutung, daß ein zu fein verriebener Impfstoff, der doch an sich besser resorbiert werden muß als ein grob oder mittelfein zerkleinerter, nicht immunisiert. Die bloße Aufnahme von präformierten Stoffen ist demnach für den Impfschutz der bisher üblichen Verfahren nicht von Belang. Auch die schon erwähnte Beobachtung von Thomas, daß bei der Schweif-Fadenimpfung Monate lang lebensfähige und infektionstüchtige Rauschbrandbazillen aus den Gewebspartien der Impfstelle kultiviert werden können, spricht für die Auffassung des Immunisierungsvorganges als eines — örtlich meist begrenzten — Infektionsprozesses.

In diesem örtlich erfolgenden Anwachsen der Mikroben sowie in der fast unüberwindbaren Schwierigkeit einer tatsächlich immer in gleicher Weise im gewünschten Sinne erfolgenden „Abschwächung“ des Materiales — liegt aber unseres Erachtens auch die Gefährlichkeit aller Verfahren — auch der kombinierten Schutzimpfungsmethode, da die Begrenzung einer einmal eingetretenen Entwicklung der Keime stets von Zufälligkeiten abhängt, und jedenfalls auch durch einen Serumzusatz kaum ein sicherer Einfluß auf denjenigen Grad der Entwicklung genommen werden kann, der ohne gefährlich zu werden, gerade immunisierend wirkt.

Was speziell die sogenannte „Abschwächung“ des Impfstoffes bei Einwirkung höherer Temperaturen betrifft, so handelt es sich im vorliegenden Falle um folgendes:

Vor allem werden die labilen, gelösten Giftstoffe, soferne solche überhaupt vorhanden sind (s. o.), hierbei zerstört. Dann erwartet man auch, daß durch das entsprechend hohe Erhitzen nicht nur alle vegetativen Formen und weniger lebensfähigen Sporen zugrunde gehen, sondern auch die übrigen Dauerformen derart beeinflußt werden, daß sie zum Teil die Auskeimungsfähigkeit verlieren oder langsamer auskeimen, vielleicht auch

in ihrem Plasma derart verändert werden, daß die zur Entwicklung gelangte Generation weniger Toxine bildet. Die Annahme aber, daß die Sporen, die auskeimen, ganz allgemein abgeschwächte Generationen liefern, ist durchaus nicht zutreffend. Abgesehen von analogen Erfahrungen über mißlungene Abschwächung beim Milzbrandbazillus, können wir auf eigene Beobachtungen hinweisen, die uns zeigten, daß angeblich abgeschwächtes Material sehr virulente Sporen enthielt. Bleibt aber das Wachstum aus, oder ist dasselbe zu geringfügig, so fehlt auch der Schutz. Wie kann man da die Mikrobien zu der gewünschten Tenazität und anderseits zur Nachgiebigkeit am sichersten verhalten??

Es wäre nun ganz einfach, wenn sich durch Anstellung einiger Rinderversuche alljährlich Unschädlichkeit und Schutzkraft des für die Schutzimpfung im Großen bestimmten Impfstoffes feststellen ließen.

Wer die vorstehende Arbeit durchgelesen, wird aber begreifen, wie wenig sichere Schlüsse aus solchen kleinen Versuchen gezogen werden dürfen. Die individuelle Empfänglichkeit der Rinder ist eben eine zu verschiedene. Und so mag es sich auch erklären, warum die von einer Zentrale verfertigten und versendeten Impfpulver — vielleicht durch mehrere Jahre — überall anstandslos verwendet werden, bis auf einmal in einem Jahre rätselhafterweise auffallend viele Fälle von Impf-Rauschbrand der Behörde zur Kenntnis kommen.

Die Vorteile, die in der Verwendung mikrobienfreier, präformierter wirksamer Stoffe zur Schutzimpfung lägen, sind so in die Augen springend, daß die Prüfung, ob sich Rinder mit Hilfe von Giftlösungen gegen den Weide-Rauschbrand immunisieren lassen, das größte Interesse beanspruchen durfte.

Unsere Bestrebungen, in der Praxis diesbezügliche Untersuchungen anzustellen, wurden durch das außerordentlich liebenswürdige Entgegenkommen des damaligen Referenten im österreichischen Ministerium des Innern, Herrn Ministerialrates Bernhard Sperk, eines eifrigen Verfechters der Schutzimpfungsidee in unserer Heimat, in hohem Maße erleichtert. Wir sagen auch an dieser Stelle dem genannten Herrn für die unermüdliche Fürsorge und für das lebhafte Interesse, das er an den Fortschritten unserer Arbeiten nahm, unsern wärmsten Dank.

Leider nahm infolge eines überstürzten Vorgehens der erste Versuch, den wir im Frühjahre 1901 anstellten, einen unerwarteten Verlauf.

Es war unsere Absicht gewesen, die Schutzwirkung der Giftinjektionen in möglichst großen Dosen zu erproben, um über den Wert des Verfahrens sicher orientiert zu werden. Infolge der damals noch weniger gekannten und speziell in Hinsicht auf die Wirkung gegenüber Rindern unterschätzten Wirksamkeit der Giftlösungen, ließen wir uns verleiten, zu hohe Dosen zu verwenden, so daß unter den 306 der Impfung unterzogenen Rindern 23 (Kälber) an der Giftwirkung zugrunde gingen, während 40 bis 50 Stück schwer erkrankten.

Selbstverständlich bringen unsere Protokollauszüge die Einzelheiten dieses mißlungenen Versuches, der übrigens reichlich Gelegenheit zum Studium der Giftwirkung gab.

Die Katastrophe war außer durch den Wunsch, möglichst hohe Dosen zu verwenden, auch durch den Umstand veranlaßt worden, daß anläßlich der, mit einer (beträchtlich) schwächeren Giftlösung vorgenommenen ersten Injektion, die Kälber — nur solche wurden auch von den Unfällen betroffen — sich wenig empfindlich gezeigt hatten, so daß wir an eine von Haus aus geringere Empfänglichkeit der Rasse dachten.

Auch örtliche Nachkrankheiten, insbesondere Abszesse an der Injektionsstelle, mit partieller Nekrose der Haut und der Muskulatur, wurden im Anschluß an die Impfung gesehen.

Diese Affektionen bildeten sich offenbar im Gefolge der umfangreichen, unter der Giftwirkung und dem Druck der kolossalen Ödeme eintretenden Gewebsnekrose, die das sekundäre Einwandern von Mikroorganismen begünstigte. Gewiß mag auch die große Menge der injizierten Flüssigkeit (30 *cm*³) eine Rolle spielen, wenngleich das Hauptgewicht auf die Wirkung übertriebener Mengen von Gift zu legen ist.

An Weiderauschbrand ging von den 280 aufgetriebenen Kälbern und Jungrindern keines zugrunde, obgleich es sich um exquisite Rauschbrandalpen handelte, die alljährlich unter dem gleichen Viehstande mehrere bis zahlreiche Opfer forderten. Der ungleiche Perzentsatz der Mortalität an Weiderauschbrand, auf den schon hingewiesen wurde, läßt es wohl nicht zu, aus diesem Verhalten einen Schluß auf vollzogenen Impfschutz zu

ziehen. Es könnte auch der Einwand gemacht werden, daß die empfänglichsten unter den Impflingen bereits bei der Impfung dem Gifttode anheimfielen, wobei allerdings angenommen werden müßte, daß Giftempfänglichkeit und fehlende oder vorhandene natürliche Immunität gegen den Weiderauschbrand miteinander in enger Beziehung stehen. Es träfe übrigens dieser Einwand nicht zu, da die starke Giftlösung, die zu den Unfällen und schweren Erkrankungen führte, nur bei etwa 8[illegible] Kälbern und Jungrindern gebraucht wurde, während der Rest der Tiere mit weniger wirksamen Giftlösungen behandelt wurde (s. Protokolle).

Eines war jedoch unter allen Umständen aus diesem Versuche zu ersehen. Es traten bei der Immunisierung mit Giftlösungen, auch wenn die Dosis erniedrigt wurde, bei den Impftieren regelmäßig starke Schwellungen auf, die den Viehbesitzern Besorgnis einflößten. Unsere Versuche, diese Schwellungen ohne Beeinträchtigung der immunisierenden Wirkung durch Herabsetzen der Giftdosis zu beseitigen, führten zunächst zu keinem Resultat.

Selbst Dosen, die Bruchteile (1/20 bis 1/40) der tödlichen Minimaldosis betrugen, führten oft zu nicht unbeträchtlichen Schwellungen, die, wenn sie auch ganz ungefährlich waren, jedenfalls die Methode bald in Mißkredit gebracht hätten. Auch die Regierung hielt eine raschere Einbürgerung des Verfahrens in der damaligen Form, mit Rücksicht auf diese Verhältnisse, für ausgeschlossen.

Durch die Entdeckung, daß **Serum-Toxingemische die gleiche Wirksamkeit entfalten wie Giftlösungen, war ohne weiteres die Möglichkeit geboten, das Verfahren der Impfung in ein gänzlich ungefährliches umzuwandeln.**

Wir haben auch bereits im heurigen Frühjahre in Tirol und Niederösterreich über 2[illegible] Stück Jungrinder und Kälber mit Serum-Toxingemischen geimpft und konnten mit Genugtuung feststellen, daß — entsprechend den Voraussetzungen — bei keinem der Impflinge Schwellungen oder irgendwelche Erkrankungen im Gefolge der Impfung auftraten.

Auch die Schutzwirkung war eine befriedigende, da unter den geimpften Tieren (Rauschbrandweiden in Tirol und Niederösterreich) keines an Rauschbrand erkrankte

Der Vorteil dieses Verfahrens gegenüber der früher von uns geübten Methode liegt darin, daß, wie hervorgehoben, keine Schwellungen entstehen, und die Tiere in keiner Weise Störungen ihres Allgemeinbefindens zeigen. Hierzu kommt, daß nur einmal geimpft zu werden braucht, da man die injizierte Giftdosis beliebig zu steigern vermag. Das bedeutet gewiß einen Fortschritt gegenüber allen bisherigen angewendeten oder empfohlenen Methoden. Als einen weiteren, ganz besonderen Vorzug des Verfahrens möchten wir es schließlich auch bezeichnen, daß durch Gewinnung hochwirksamer Giftlösungen und durch Erhöhung der Dosis (eventuell Injektion an verschiedenen Körperstellen) die Immunisierung sozusagen gefahrlos „dosierbar" ist und in beliebigem Umfange gesteigert werden kann. Dies könnte bei besonders kostbarem Weidevieh in Frage kommen.

Es muß ja natürlich ausgedehnten Versuchsreihen vorbehalten werden, über die Gift-Serumimpfung ein endgiltiges Urteil zu fällen, vorläufig mag nur zu erwägen sein, ob das Verfahren, wenn es die gewünschte Schutzkraft besitzt, genügend praktikabel ist, um allgemein angewendet zu werden. Dies scheint uns in ausreichendem Maße der Fall zu sein.

Die Herstellung der Giftlösung begegnet, soferne dieselbe in Händen von Fachleuten und zentralisiert ist, keinen Schwierigkeiten. Noch einfacher gestaltet sich die Gewinnung des Serums, von dem ja relativ sehr kleine Mengen für die Impfung zur Verwendung kommen. Rechnet man selbst als Giftdosis 10 cm^3 einer 20fachen Normalgiftlösung (= 20.000 tödliche Meerschweinchendosen), so genügen zur Neutralisation des Giftes 0·5 cm^3 eines 400fachen Normal-Rauschbrandserums. Mit 3 Liter Serum, einer Menge, die man von einem Jungrinde nach mehrmonatlicher Behandlung unschwer erhält, kommt man daher bequem für 6000 Rinder aus. Dabei ist noch gar nicht berücksichtigt, daß von anderen Rindern, vielleicht auch von einer anderen Tierspezies, z. B. vom Pferd, möglicherweise ein viel wirksameres Serum gewonnen werden kann, sowie daß unter Umständen schon viel kleinere Giftdosen zur Herstellung des erforderlichen Immunitätsgrades ausreichen können.

Die Ausführung der Impfung ist die denkbar einfachste. Wir bedienen uns für die Impfung der Rinder seit langem

vorzüglicher, schwach konischer Kanülen aus Stahl, die mit ihrem verstärkten Ende an eine Handhabe, bestehend aus einem hölzernen Griff mit eingelassenem stählernen, soliden Konus, dicht aufgesetzt werden können. Die an der Handhabe befestigte Kanüle wird eingestoßen, der Griff herausgezogen, und die inzwischen gefüllte Spritze angesetzt. Als Injektionsstelle wählen wir die bisher aus Reinlichkeitsgründen stets bevorzugte Partie hinter der Schulter. Vor der Injektion wird am besten eine kleine Stelle mit der Pferdeschere geschoren, abgebürstet und eventuell mit Lysol etc. abgerieben. Im heuer ausgeführten Versuche erfolgte die Mischung von Giftlösung und Serum erst am Versuchstage selbst. Es wird von unseren Erfahrungen über die Haltbarkeit der Toxin-Antitoxinverbindung abhängen, ob die Mischung nicht schon bereits im Laboratorium vorgenommen werden kann, was eine angenehme Vereinfachung des Verfahrens und eine Entlastung des Impftierarztes bedeuten würde.[1])

Ob das Serum an sich geeignet ist, in anderer Weise Verwendung zu finden, speziell als Heilserum — wir denken hier an Impfrauschbrand im Gefolge von Impfungen nach Lyoner Methode etc. — gebraucht zu werden, läßt sich vorderhand nicht feststellen. Jedenfalls könnte gerade beim Rauschbrand aus leicht zu begreifenden Gründen eine solche günstige Einwirkung von Heilserum nur dann erwartet werden, wenn die Behandlung frühzeitig, beim Auftreten der ersten Symptome einsetzt. Eines Versuches wäre die Sache wert, aber — jedenfalls nur bei Gegenwart von Fachleuten, die mit Theorie und Praxis vertraut sind.

Wir wollen den Gegenstand nicht verlassen, ohne einem Gedanken Ausdruck zu geben, der uns zu wiederholten Malen aus Anlaß der geplanten Schutzimpfung beschäftigte. Es scheint uns, daß bisher in der humanen Schutzimpfungslehre die Bedeutung der Toxin-Serumgemische ganz wesentlich unterschätzt worden ist, und wir möchten betonen, daß denn doch die bisher bekannt gewordenen Fälle, wo im Tierversuche eine Immunisierung mit Gemischen nicht gelingt (Diphtherie-Pferd),

[1]) Während der Drucklegung dieser Arbeit konnte festgestellt werden, daß in der Tat durch Injektion eines mehrere Wochen gelagerten Gift-Serumgemisches bei Rindern ein nachhaltiger Giftschutz hervorgerufen wird.

keineswegs berechtigen, die Nichtverwertbarkeit dieser Immunisierungsmethode zu verallgemeinern. Gerade Erfahrungen, wie z. B. daß Kaninchen mit Toxin-Serumgemischen gegen das Diphtheriegift immunisiert werden können, weisen darauf hin, daß hier Dinge vorliegen, die bei jeder Tierspezies, für jedes Gift besonders erprobt werden müssen.

In allen Fällen, in welchen es sich um Infektionserreger handelt, deren Gifte in den Kulturen gewonnen werden können (Diphtherie, Tetanus, vielleicht auch Pest und Gonorrhoe), wäre daran zu denken — vorausgesetzt, daß die bisherigen Erfahrungen über die Immunität, wie sie nach Behandlung mit Serum oder Giften oder anderen Substanzen erreicht wird, nicht praktisch befriedigend sind — ob nicht der menschliche Organismus durch Toxin-Antitoxingemische immunisiert werden könnte.

I. Schutzimpfungsversuch im Mai 1901.

Serfaus, Bezirkshauptmannschaft Landeck, Tirol.

Geimpft werden 201 Kälber im Alter von 5 bis 8 Monaten und 105 $1^1/_2$- bis $3^1/_2$jährige Stiere, Ochsen und trächtige Kuhkälber.

Die Impfung wird zweimal, mit einem Intervall von 11 Tagen zwischen den beiden Injektionen, vorgenommen.

Nur 4 Kälber und 4 Jungrinder werden dreimal geimpft.

Bei der ersten Injektion, wobei je 5 cm^3 einverleibt wurden, kam für die Kälber eine Giftlösung in Anwendung, die nach der vorher im Laboratorium vorgenommenen Titrierung einer zirka $^1/_{10}$ Normalgiftlösung entsprach, für die älteren Rinder wurde eine beiläufig $^1/_4$ Normalgiftlösung verwendet.

Bei der zweiten Injektion erhalten 90 Kälber und 5 ältere Jungrinder je 30 cm^3 Normalgiftlösung (2 von den älteren Tieren je 40 cm^3), 41 Kälber und Jungrinder erhalten je 30 cm^3 einer $^1/_2$ Normalgiftlösung, der Rest je 30 cm^3 einer Giftlösung, von der 0·1 cm^3 ein Meerschweinchen in 24 Stunden tötete.

Die 8 dreimal behandelten Rinder erhalten bei der ersten Injektion je 1·0 bis 2·0 cm^3 einer $^1/_{10}$ Normalgiftlösung, bei der zweiten Injektion je 10 cm^3 einer $^1/_5$ Normalgiftlösung. Bei der dritten Injektion wird den Kälbern und einem Jungrind je

30 cm^3 Normalgiftlösung, den übrigen je 30 cm^3 $^1/_2$ Normalgiftlösung injiziert. Es treten keine besonderen Reaktionen im Anschlusse an die Impfungen auf.

Verhalten der Rinder nach der ersten Injektion.

Die Reaktion war bei sämtlichen Rindern eine sehr schwache. Bei den älteren Jungrindern waren durchschnittlich faust- bis kindskopfgroße Schwellungen an der Injektionsstelle zu sehen, die Tiere wiesen aber gar keine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens auf. Die Kälber zeigten vereinzelt Schwellungen an der Injektionsstelle, die vielfach gegen die Unterbrust zu sich gesenkt hatten, sie waren aber gleichfalls durchwegs munter. Auch eine Abnahme der Freßlust war in keinem Falle zu bemerken, ebensowenig stieg die Temperatur, wie in etwa 20 Fällen durch rektale Messung konstatiert wurde.

Verhalten der Rinder nach der zweiten Injektion.

Die mit schwächeren Giftlösungen ($^1/_2$ und $^1/_{10}$ Normal) behandelten Rinder wiesen durchwegs im Anschlusse an die Injektion ausgedehnte Schwellungen auf, die vielfach in den Triel und die Unterbrust reichten, und öfters auch die Flankengegend einnahmen; eine wesentliche Störung des Allgemeinbefindens war aber nirgends zu konstatieren. Auch wurden die Schwellungen gewöhnlich schon nach 48 Stunden kleiner und blieben nur in ganz vereinzelten Fällen 5 bis 8 Tage bestehen. Ein einziges, schwächliches Kalb (5 Monate alt) hatte etwas heftiger reagiert und verweigerte auch durch 2 Tage das Futter.

Ganz anders gestaltete sich das Resultat bei den Rindern, die mit der stärkeren Giftlösung behandelt wurden. Während die älteren Tiere, abgesehen von 2 Stück (mit 40 cm^3 behandelt), ziemlich mäßig reagierten und kaum in ihrem Allgemeinbefinden beeinträchtigt waren, zeigte sich weitaus die größere Anzahl der Kälber der starken Giftdosis, die offenbar der absolut tödlichen Dosis sehr nahe kam, nicht gewachsen. Nur etwa 3 Tiere ließen eine merkwürdige Unterempfindlichkeit gegenüber dem Gifte erkennen, indem sie weder lokale Schwellungen aufwiesen, noch in ihrem sonstigen Verhalten irgend welche Krankheitserscheinungen zeigten. Es verdient diese Beobachtung um so mehr Beachtung, als wir in unseren Laboratoriumsver-

suchen niemals bei irgend einer giftempfindlichen Tierspezies auffallende, individuelle Unterschiede bemerken konnten.

Die Mehrzahl der Kälber reagierte in ungewöhnlich hohem Maße und bot ein typisches Krankheitsbild mit ganz charakteristischen Symptomen, auf die wir schon früher bei der Besprechung der Wirkungsweise der Giftlösungen aufmerksam gemacht haben. Bereits 8 bis 10 Stunden nach der Injektion traten bei den Tieren intensive Schwellungen auf. Bei einer größeren Anzahl von Tieren steigerten sich rapid die Allgemeinerscheinungen — Abnahme der Freßlust, Unruhe etc., es kam zu schwerem Kollaps unter Ausbrechen von Schweiß. 30 Stunden nach der Injektion verendete ein Kalb, nachdem es nach Angabe der Bauern bereits mehrere Stunden vorher unter Erscheinungen von starker Atemnot in Seitenlage angetroffen worden war. Der nächste Tag brachte 2 Todesfälle, in den folgenden 6 Tagen wurden weitere 20 gemeldet. Die Krankheitserscheinungen waren überall so ziemlich dieselben. Im Vordergrund standen die enormen Schwellungen, die bei männlichen Kälbern auch die Harnentleerung erschwerten, sowie die regelmäßig auftretenden dyspnoischen Erscheinungen.

Die Sektion der gefallenen Tiere bot die bereits geschilderten, charakteristischen Anzeichen des Gifttodes, nur traten dieselben hier in einer besonderen Ausdehnung und Mannigfaltigkeit auf. Mächtige hämorrhagisch-sulzige Infiltrationen des Unterhautzellgewebes und des intermuskulären Bindegewebes im weiten Umkreise der Injektionsstelle, serös-fibrinöse Exsudate in den Brusthöhlen beherrschten das Bild. Selbstverständlich waren die Muskulatur und die Ödemflüssigkeit frei von Gasblasen, ebenso fehlte jeder auffällige Geruch. Wir entnahmen zur Kontrolle kleine Stückchen der Muskulatur und des Unterhautbindegewebes und prüften sie im Laboratorium auf Infektiosität. Es stellte sich bei keinem der geimpften Meerschweinchen ein rauschbrandiger Prozeß ein. Leider waren wir bei der Fülle der an uns gestellten Aufgaben nicht in der Lage, das Material einigermaßen so gründlich, wie es wünschenswert gewesen wäre, aufzuarbeiten.

Außer den 23 eingegangenen waren etwa noch weitere 40 bis 50 Kälber schwer erkrankt und genasen nur infolge

der aufopfernden Pflege der Bauern, deren verständnisvolles, ruhiges Benehmen nicht genug gerühmt werden kann.

Ein Kalb bot ganz besonders bemerkenswerte Symptome dar, indem es sich fortwährend im Kreise drehte und jeden Orientierungssinn verloren zu haben schien. Dabei zeigte sich ein eitrig-schleimiger Ausfluß aus der Nase. Ein zweites Kalb zeigte vorübergehend Kontrakturen der Vorder- und Hinterbeine, andere Tiere wiesen anhaltende Durchfälle auf etc. Profuse Diarrhoen traten allerdings bei den erkrankten Tieren auch häufig zusammen mit einer überreichlichen Harnentleerung in einer derart typischen Weise ein, daß man den Zustand geradezu als Krise bezeichnen konnte.

Erwähnen wollen wir noch, daß wir bei 8 Kälbern, deren Befinden von den Bauern als besonders ungünstig bezeichnet wurde, je 10 cm^3 unseres antitoxischen (200fach Normal) Serums injizierten, und daß keines dieser Tiere in der Folge zugrunde ging. Die Versuchsreihe ist natürlich zu klein, um sichere Schlüsse zu gestatten.

Etwa 14 Tage nach der zweiten Injektion waren die akuten, unmittelbar auf die Giftwirkung zu beziehenden Symptome geschwunden, und nur eine gewisse Steifigkeit in den Bewegungen der Tiere ließ darauf schließen, daß örtliche Komplikationen den Heilungsvorgang noch hinderten. Tatsächlich traten noch bei 50 bis 60 Tieren an der Injektionsstelle, nachdem die Schwellungen sich bereits abgeflacht hatten, Abszesse auf, die in fast allen Fällen nach erfolgter Inzision glatt ausheilten.

In 2 Fällen bildeten sich ausgedehntere Unterminierungen der Haut. Der Prozeß ging hier erst nach mehreren Wochen in Heilung über.

In 2 Fällen veranlaßte uns der wenig aussichtsvolle Zustand der an ähnlichen Erscheinungen erkrankten Kälber, die Schlachtung der Tiere anzuordnen.

Herrn Bezirks-Obertierarzt Faschingbauer, der uns bei den Versuchen freundlichst unterstützte, sagen wir an dieser Stelle den besten Dank.

II. Schutzimpfungsversuch, April 1903.

Dr. Kupelwieser'sche Gutsverwaltung in Lunz, Bezirkshauptmannschaft Scheibbs, Niederösterreich.

Geimpft wurden 20 Stück $1^1/_2$- bis 3jährige Jungrinder mit je 20 *cm*³ eines Serum-Toxingemisches, das auf je 100 *cm*³ einer Normal-Giftlösung 10 *cm*³ 200faches Normalserum enthielt. Einmalige Applikation. Bei keinem der Tiere traten Reaktionserscheinungen auf, von minimalen örtlichen Schwellungen (taubeneigroß) an der Impfstelle abgesehen, die nach wenigen Tagen vollständig geschwunden waren.

Bei der Sommerung wurde kein Fall von Rauschbrand beobachtet, während von den ungeimpften Tieren auf denselben Weiden 5 Stück zugrunde gingen.

III. Schutzimpfungsversuch, Mai 1903.

Serfaus, Bezirkshauptmannschaft Landeck, Tirol.

Geimpft wurden 186 Stück Jungrinder und Kälber mit je 12 bis 15 *cm*³ eines Serum-Toxingemenges, das auf je 100 *cm*³ einer (zirka) $^1/_5$ Normalgiftlösung 4 *cm*³ eines 200fachen Normalserums enthielt. Einmalige Impfung. Weder die Kälber noch die Jungrinder reagierten in irgend einer Weise auf die Injektion.

An Weiderauschbrand ging keines der Tiere zugrunde.

